

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

Dicofol e Estresse: Efeitos da Exposição Materna no Desenvolvimento  
Pré e Pós-Natal da Prole de Ratas

Regiane Kawakami

*Regiane Kawakami*  
*06/02/04*

Tese para obtenção do grau de  
**DOUTOR**

Orientadora:  
Profa. Dra. Ione Pellegatti Lemonica

São Paulo  
2003

---



**Kawakami, Regiane**

**Dicofol e Estresse: Efeitos da Exposição Materna no Desenvolvimento Pré e Pós-Natal da Prole de Ratas / Regiane Kawakami. – 2003.**

**Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.**

**1. Praguicida - Toxicologia**

**Palavras-chave: Exposição Pré-Natal; Praguicida; Dicofol; Estresse; Embriofetotoxicidade; Desenvolvimento Pós-Natal.**

Regiane Kawakami

Dicofol e Estresse: Efeitos da Exposição Materna no Desenvolvimento  
Pré e Pós-Natal da Prole de Ratas

Comissão Julgadora  
da  
Tese para obtenção do grau de Doutor

Profa. Dra. Ione Pellegatti Lemonica  
Orientador/Presidente

---

1º. examinador

---

2º. examinador

---

3º. examinador

---

4º. examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

*Dedico esta tese*

*Aos meus pais, Tomico e Paulo (in memoriam), que com seus esforços, apoio e amor tornaram possível a concretização de mais uma etapa de minha vida, e a quem devo minhas conquistas pessoais e profissionais.  
Minha eterna gratidão, admiração, respeito e amor !*

*À minha orientadora e amiga, Dra Ione Pellegatti Lemonica, a quem admiro e respeito pelo profissionalismo, pelos conhecimentos, pela amizade, e acima de tudo, pelo exemplo de vida e de força que representa. Devo aos seus ensinamentos e oportunidades a profissional que sou hoje. Muito obrigada !*

## *Agradecimentos*

À BIOAGRI Laboratórios Ltda., por possibilitar a condução da fase experimental nas suas instalações.

Ao Dr. Milton Vargas, pelo apoio, pelo incentivo, pela oportunidade e pela compreensão que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À minha irmã Roseli e ao meu cunhado Osvaldo pela amizade e grande ajuda em todos os momentos.

Ao Sílvio Delano do Amaral Guimarães, pela amizade, pelo incentivo, pela paciência e pela ajuda na condução deste trabalho.

À Dow Agrosciences, em especial à Cristina Lima, que gentilmente forneceu o produto técnico.

À AFIP – Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia, em especial à Magda Bignotto, pela realização da análise hormonal.

Ao Prof. Dr. Sérgio Tuffic pelo apoio na realização da análise hormonal.

À Monica Levy Andersen (querida *Shimu*) pela grande amizade, pelas longas conversas e pela fundamental ajuda na análise hormonal.

À Fabiana Medeiros da Silva (*Tur*) e Renata Máزارo (*Rê*) pela amizade, pelas conversas animadas, pelas infinitas risadas e pelo apoio em todos os momentos, mesmo a longas distâncias.

Ao Prof. Jaime Rodrigues do CESUBRA pelo apoio e compreensão.

Aos técnicos Sérgio Pereira, Benedito Júnior, Rui inácio, Jorge Roberto, Jorge Mistral, Wagno Teixeira, Anderson Neves, José Nilson, Simão Pedro e Marcos Oliveira pela colaboração e ajuda constantes.

Aos meus colegas da BIOAGRI, em especial ao Márcio de Paula, pelas conversas científicas e profissionais, e pelas dicas e colaboração.

Aos colegas da pós-graduação, especialmente à Simone Valente, à Sílvia Odo e à Patrícia Miranda pela agradável convivência.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na condução deste trabalho.

Ao pai, ao amigo, ao conselheiro, ao irmão, ao confidente, ao crítico e ao maior de todos os responsáveis por este trabalho, e que sem ele nenhum agradecimento seria possível, à Deus.

---

## Sumário

|  |     |
|--|-----|
| Resumo   |     |
| Summary  |     |
| 1. Introdução .....  | 1   |
| 1.1 Praguicidas Organoclorados – Revisão de Literatura .....     | 4   |
| 1.1.1 Histórico .....  | 4   |
| 1.2.1. Características Gerais .....                              | 5   |
| 1.2 Dicofol .....  | 7   |
| 1.2.1 Informações Gerais .....                                   | 7   |
| 1.2.2 Toxicidade em Mamíferos .....                              | 8   |
| 1.2.3 Efeitos Reprodutivos .....                                 | 9   |
| 1.3 Estresse – Revisão de Literatura .....                       | 11  |
| 1.3.1 Respostas ao Estresse .....                                | 12  |
| 1.3.2 Estresse Pré-Natal .....                                   | 15  |
| 2. Objetivos .....   | 16  |
| 2.1 Objetivos Gerais .....                                       | 16  |
| 2.2 Objetivos Específicos .....                                  | 16  |
| 3. Material e Método .....                                       | 17  |
| 3.1 Droga e Via de Administração .....                           | 17  |
| 3.2 Animais .....  | 17  |
| 3.3 Manutenção dos Animais .....                                 | 17  |
| 3.4 Bem-Estar Animal .....                                       | 18  |
| 3.5 Grupos Experimentais .....                                   | 18  |
| 3.6 Procedimento Experimental .....                              | 19  |
| 3.6.1 Acasalamento e Diagnóstico de Prenhez .....                | 19  |
| 3.6.2 Indução do Estresse Materno .....                          | 19  |
| 3.6.3 Dosagem de Corticosterona .....                            | 19  |
| 3.6.4 Experimento 1 – Efeitos no Desenvolvimento Embrifetal .... | 20  |
| 3.6.5 Experimento 2 – Efeitos no Desenvolvimento Pós-Natal ..... | 23  |
| 3.7 Análise Estatística .....                                    | 28  |
| 4. Resultados .....  | 29  |
| 4.1 Efeitos no Desenvolvimento Embrifetal .....                  | 29  |
| 4.1.1 Avaliação da Toxicidade Materna .....                      | 29  |
| 4.1.2 Avaliação Fetal .....                                      | 45  |
| 4.2 Efeitos no Desenvolvimento Pós-Natal .....                   | 65  |
| 4.2.1 Avaliação da Toxicidade Materna .....                      | 65  |
| 4.2.2 Avaliação dos Filhotes .....                               | 85  |
| 5. Discussão .....   | 108 |
| 6. Conclusão .....   | 131 |
| 7. Referências Bibliográficas .....                              | 132 |

## Lista de Tabelas

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tabela 1.  | Escala de escores para a quantificação do comportamento materno . . . . .  | 24 |
| Tabela 2.  | Peso corporal (gramas) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                                  | 32 |
| Tabela 3.  | Ganho de peso corporal (gramas) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                         | 34 |
| Tabela 4.  | Ganho de peso corporal corrigido (gramas) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....               | 36 |
| Tabela 5.  | Consumo de ração materno (gramas/animal/dia) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....            | 39 |
| Tabela 6.  | Pesos absoluto e relativo (ao peso corporal) dos órgãos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 41 |
| Tabela 7a. | Performance reprodutiva de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                                 | 43 |
| Tabela 7b. | Performance reprodutiva de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. (continuação)                        | 44 |
| Tabela 8.  | Peso dos fetos (gramas) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.....                                  | 46 |
| Tabela 9.  | Peso das placentas (gramas) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                             | 48 |

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Tabela 10.  | Avaliação externa de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. ....   | 50 |
| Tabela 11a. | Avaliação visceral de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. ....  | 52 |
| Tabela 11b. | Avaliação visceral de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação) .....   | 53 |
| Tabela 11c. | Avaliação visceral de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação) .....   | 54 |
| Tabela 12a. | Avaliação esquelética (malformações) de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. ....  | 57 |
| Tabela 12b. | Avaliação esquelética (variações) de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. ....   | 58 |
| Tabela 12c. | Avaliação esquelética (variações) de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação) .....                                | 59 |
| Tabela 12d. | Avaliação esquelética (retardos) de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. ....  | 60 |
| Tabela 12e. | Avaliação esquelética (retardos) de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação) .....                                 | 61 |
| Tabela 12f. | Avaliação esquelética (retardos) de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação) .....                                 | 62 |
| Tabela 13.  | Grau de ossificação de fetos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 64 |



|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tabela 14. | Peso corporal (gramas) durante o período de gestação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....               | 67 |
| Tabela 15. | Ganho de peso corporal (gramas) durante o período de gestação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....      | 69 |
| Tabela 16. | Peso corporal (gramas) durante o período de lactação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....               | 71 |
| Tabela 17. | Ganho de peso corporal (gramas) durante o período de lactação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....      | 73 |
| Tabela 18. | Consumo de ração (gramas/animal/dia) durante o período de gestação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 76 |
| Tabela 19. | Consumo de ração (gramas/animal/dia) durante o período de lactação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 78 |
| Tabela 20. | Comportamento materno durante o período de gestação e lactação de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....     | 80 |
| Tabela 21  | Pesos absoluto e relativo (ao peso corporal) dos órgãos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....            | 82 |
| Tabela 22. | Performance reprodutiva de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. ....  | 84 |

|             |   |     |
|-------------|---|-----|
| Tabela 23a. | Status ao nascimento (dia 0 pós-natal) dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. ....   | 86  |
| Tabela 23b. | Status dia 4 pós-natal dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. ....   | 87  |
| Tabela 23c. | Status dia 21 pós-natal dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. ....  | 88  |
| Tabela 24.  | Distância anogenital (mm) no dia 0 pós-natal dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                                   | 89  |
| Tabela 25.  | Peso corporal dos filhotes (gramas), antes da padronização, de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                                 | 92  |
| Tabela 26.  | Peso dos filhotes (gramas) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....  | 95  |
| Tabela 27.  | Avaliação física dos filhotes (dia de ocorrência) de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....   | 97  |
| Tabela 28.  | Peso corporal (gramas) e idade (dias) no dia de ocorrência de maturidade sexual de filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 98  |
| Tabela 29.  | Avaliação reflexológica (dias de ocorrência) dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                                   | 100 |
| Tabela 30.  | Frequência de locomoção dos filhotes machos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....   | 102 |

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| Tabela 31. | Frequência de levantar dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....             | 103 |
| Tabela 32. | Duração de imobilidade (segundos) dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 104 |
| Tabela 33. | Frequência de limpeza dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....             | 105 |
| Tabela 34. | Duração de limpeza (segundos) dos filhotes de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....     | 106 |
| Tabela 35. | Frequência de defecação dos filhotes machos de ratas <i>Wistar</i> dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....    | 107 |

### Lista de Figuras

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| Figura 1. | Estrutura química do DDT (a) e do dicofol (b).....  | 8  |
| Figura 2. | Peso corporal (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                    | 31 |
| Figura 3. | Ganho de peso corporal (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....           | 33 |
| Figura 4. | Ganho de peso corporal corrigido (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 35 |

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Figura 5.  | Consumo de ração (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....   | 38 |
| Figura 6.  | Peso corporal (gramas) de fetos de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                                     | 45 |
| Figura 7.  | Peso da placenta (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....   | 47 |
| Figura 8.  | Peso corporal (gramas) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....               | 66 |
| Figura 9.  | Ganho de peso corporal (gramas) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....      | 68 |
| Figura 10. | Peso corporal (gramas) de ratas durante o período de lactação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....               | 70 |
| Figura 11. | Ganho de peso corporal (gramas) de ratas durante o período de lactação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....      | 72 |
| Figura 12. | Consumo de ração (gramas/animal/dia) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 75 |
| Figura 13. | Consumo de ração (gramas/animal/dia) de ratas durante o período de lactação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 77 |

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figura 14. | Peso dos filhotes (gramas), antes da padronização, de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. .... | 91 |
| Figura 15. | Peso dos filhotes machos (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                  | 93 |
| Figura 16. | Peso dos filhotes fêmeas (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia ou óleo de milho (controle), nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. ....                  | 94 |

## Resumo

Os efeitos da exposição pré-natal ao praguicida organoclorado dicofol e ao estresse por contenção, como risco agregado, no desenvolvimento embriofetal e pós-natal da prole de ratas foram verificados no presente estudo. Foram utilizadas ratas Wistar prenhes que receberam as doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia de dicofol ou óleo de milho (controle), por gavagem, submetidas ou não ao estresse de contenção, em diferentes períodos da gestação. Para verificação dos efeitos no desenvolvimento embriofetal, os animais foram tratados e estressados nos dias 5 a 19 de gestação, e ao final do período de gestação os parâmetros maternos e fetais foram avaliados. A interação do dicofol e do estresse não resultou em toxicidade materna bem como não resultou em retardo de desenvolvimento, malformações e/ou variações externas, esqueléticas ou viscerais nos fetos. Para a verificação dos efeitos no desenvolvimento pós-natal, as ratas foram tratadas e estressadas nos dias 14 a 20 de gestação, deixadas parir a termo e a cuidar da sua prole. Não foram observados efeitos tóxicos maternos e reprodutivos, bem como alterações nos parâmetros físicos, reflexológicos e de atividade motora dos filhotes decorrentes da interação do dicofol e do estresse. Podemos concluir pois que, mães expostas a doses não tóxicas do dicofol, mesmo durante períodos sensíveis da gestação não apresentaram incidência maior de alterações em sua prole mesmo quando submetidas a estresse moderado.

---

## Summary

Effects of prenatal exposure to the organochlorine pesticide dicofol and restraint stress, as an aggregated risk, in the embryofetal and postnatal development of the offspring were verified in this study. Pregnant female Wistar rats, submitted or not to restraint stress, received doses of 5, 10 or 20 mg/kg/dia of dicofol or corn oil (control groups), by gavage, during different periods of gestation. For evaluation of embryofetal development, the animals were treated and stressed from days 5 to 19 of gestation and at the end of gestation period, maternal and fetal parameters were evaluated. Dicofol and stress interaction did not result in maternal toxicity, delayed development and external, skeletal, and soft tissue malformations and/or variations in fetuses. For evaluation of postnatal effects, female rats were treated and stressed from days 14 to 20 of gestation and allowed to litter and rear their pups. Maternal and reproductive toxicity were not observed as well as alterations in the physical and reflexological parameters and motor activity of the pups. We can conclude that maternal exposure of non-toxic doses of dicofol, even during sensitive periods of gestation, did not show increased incidence of alterations in the offspring even when submitted to moderate stress.

## **1. INTRODUÇÃO**

A exposição do homem e do meio ambiente a agentes químicos é considerada um dos grandes problemas das últimas décadas e um desafio em termos de controle e monitoramento de seus efeitos. O grande número de novas moléculas introduzidas anualmente no mercado e a variedade de usos que lhes são destinados requerem constante atualização de dados de pesquisas e especial atenção quanto à regulamentação de seu uso.

Os dados de estudos farmacológicos, toxicológicos, clínicos e epidemiológicos são importantes meios de avaliação do quanto e de como uma molécula pode exercer ação sobre o organismo animal e o meio ambiente de maneira geral.

Entretanto, para avaliarmos de maneira adequada a exposição de uma população a determinado agente químico, devemos levar em consideração uma gama enorme de variáveis que podem modificar o efeito desse agente sobre o organismo exposto. Dentre essas variáveis podemos citar as doses e o tempo de exposição, e as condições fisiológicas do organismo exposto. Assim sendo, podemos dizer que a exposição a uma mesma dose, de um mesmo agente químico, pode resultar em efeitos diversos caso os indivíduos expostos apresentem diferentes condições nutricionais, estejam expostos concomitantemente a outros agentes químicos, ou apresentem alterações das condições fisiológicas normais.

Os testes realizados em animais consistem em um modelo importante para a avaliação de possíveis efeitos tóxicos produzidos pela exposição a diferentes agentes químicos. Sendo assim, as agências normativas internacionais, no intuito de uniformizar os dados obtidos nas diversas instituições de pesquisa, vêm estabelecendo diretrizes para a condução de estudos toxicológicos em animais, através de protocolos experimentais padronizados e estabelecendo os tipos de estudos a serem conduzidos bem como das condições ideais para realizá-los. (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2001).



Uma forma de exposição que devemos analisar de maneira especial diz respeito aos possíveis efeitos das substâncias químicas sobre a reprodução de mamíferos e, dentre eles o homem, devido ao período extenso de exposição, à diversidade de efeitos tóxicos possíveis de ocorrer e à possibilidade de ser estendido à descendência.

Durante o período de gestação vamos encontrar alterações na fisiologia materna que podem influenciar a cinética dos diferentes xenobióticos aos quais o organismo materno pode estar exposto. Dentre as alterações fisiológicas podemos citar o aumento do volume plasmático, de fluidos no espaço extracelular e da quantidade de líquidos total no organismo; diminuição dos níveis de albumina plasmática; aumento das frequências respiratória e cardíaca; além de alterações das enzimas hepáticas metabolizadoras e das funções gastrointestinal e endócrinas (ANTHONY; BERG, 2002; FREDERIKSEN, 2001).

Assim sendo, a exposição aos agentes químicos durante o período de gestação torna-se particularmente importante pois devemos considerar seus efeitos não apenas sobre o alvo primário, o organismo materno, mas também sobre seu alvo secundário, constituído pelo organismo embriofetal (LEMONICA, 2003). Quando comparado ao adulto, o organismo em desenvolvimento sofre alterações rápidas e complexas em um curto período de tempo e sua susceptibilidade aos agentes químicos irá variar de acordo com o estágio do desenvolvimento embriofetal alcançado, ou seja, de acordo com o período da gestação no qual ocorre a exposição (MANSON; KANG, 1994). Além disso, a exposição intra-uterina pode, ao nascimento, resultar em efeitos tóxicos que variam desde simples retardo de desenvolvimento fetal até malformações importantes, ou alterações comportamentais e do desenvolvimento físico dos recém-nascidos que serão somente observadas no período pós-natal.

Considerando que o organismo materno fornece ao concepto o ambiente físico, nutrientes e mecanismos para eliminação de metabólitos, alterações do estado fisiológico materno podem interferir no bem-estar do embrião (DeSESSO, 1987).

---

Deste modo, as agências normativas internacionais exigem testes específicos e padronizados para a avaliação dos possíveis efeitos adversos de novas moléculas durante o período de gestação. Estes testes envolvem a administração do agente em estudo a animais prenhes (roedores e não-roedores) durante períodos específicos da gestação e a avaliação dos possíveis efeitos sobre os organismos materno e fetal (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1998; ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2001).

Entretanto, no monitoramento de populações expostas a moléculas cujo risco de exposição é considerado seguro, podemos deparar com efeitos reprodutivos diversos dos observados nos testes realizados em laboratório o que nos levaria a questionar: seriam os testes de avaliação adequados? Teriam os testes sido inadequadamente realizados e/ou interpretados?

Na realidade, o aparecimento de efeitos não esperados em populações expostas pode ser devido a inúmeros outros fatores que interferem no desenvolvimento intra-uterino do concepto. A interação desses fatores com a exposição ao agente químico pode levar a interpretações errôneas dos efeitos na população.

Dentre os fatores que podem alterar os efeitos tóxicos de substâncias químicas sobre a reprodução e sobre o desenvolvimento pré-natal podemos citar os ambientais, a exposição simultânea a outros agentes químicos e principalmente os relacionados ao organismo materno, cuja homeostase é importante para o desenvolvimento normal do concepto, tais como doenças metabólicas ou alterações associadas à malnutrição ou ao estresse pré-natal.

Deste modo, o estresse materno pré-natal pode constituir-se em um risco agregado na avaliação do potencial embriofetotóxico de xenobióticos, devido às alterações homeostáticas que induz no organismo materno e à possibilidade de que possa potenciar os efeitos produzidos por agentes químicos e interferir na avaliação da exposição de uma população.

---

Pretendemos, pois, avaliar os efeitos da exposição pré-natal ao praguicida organoclorado dicofol, utilizado em lavouras nas quais se utiliza a mão-de-obra feminina, sobre o desenvolvimento embriofetal e pós-natal da prole de ratas associado às possíveis alterações maternas causadas pelo estresse moderado e por período limitado.

## **1.1 Praguicidas Organoclorados – Revisão de Literatura**

### **1.1.1 Histórico**

O uso de substâncias químicas no combate de pragas que constantemente ameaçam a produção de alimentos e a saúde dos homens e dos animais data da antiguidade. A literatura relata o uso de substâncias inorgânicas como o enxofre, que foi utilizado como fumegante pelos chineses antes do ano 1000 a.C. Essa mesma substância foi utilizada também em 1800 na Europa e vem sendo utilizada até os dias de hoje nos Estados Unidos. Outros relatos da literatura referem-se ao arsenato de chumbo e de cálcio, que constituíram a base do controle de insetos nocivos na agricultura no início do século XX. Por volta de 1920, o amplo uso destas substâncias inorgânicas causou considerável preocupação com relação à saúde pública devido aos resíduos tóxicos encontrados em frutas e vegetais. Após a Segunda Guerra Mundial, o uso de substâncias inorgânicas no controle de pragas foi quase que completamente substituído pelo uso de praguicidas sintéticos orgânicos (ECOBICHON, 1996).

As décadas de 1940 e 1950 caracterizaram-se pelo desenvolvimento de grande variedade de substâncias orgânicas sintéticas. Na Europa, os suprimentos dos tradicionais inseticidas de origem vegetal, como os extratos de piretro e de nicotina, essenciais para as culturas, encontravam-se limitados pelos bloqueios e pela escassez dos tempos de guerra. Sendo assim, o grande desafio da indústria química foi o de sintetizar e produzir novos produtos necessários para proteger as culturas de insetos nocivos, como também os trabalhadores de áreas tropicais de doenças transmitidas por insetos, tal como a malária (PLIMMER, 2001).

A descoberta das propriedades inseticidas dos compostos organoclorados introduziu a era dos inseticidas químicos sintéticos causando notável impacto na produção de alimentos e na saúde humana. Embora o DDT (diclorodifeniltricloroetano) tenha sido sintetizado pelo estudante alemão Zeidler em 1874, foi Paul Müller, um químico suíço trabalhando pela J.R. Geigy AG, que em 1939 redescobriu e demonstrou a efetividade do DDT contra uma grande variedade de insetos nocivos. Por esta pesquisa Müller recebeu o Prêmio Nobel em 1948. Durante e após a Segunda Guerra Mundial, o DDT foi amplamente utilizado no combate do piolho transmissor do tifo, do mosquito transmissor da malária, além de outros vetores transmissores de doenças ou de insetos de um modo geral. Por volta de 1945, as propriedades inseticidas de outros compostos organoclorados foram descobertas, e dentre esses podemos citar o aldrin, o dieldrin, o endrin e o clordane. Estes agentes químicos foram introduzidos comercialmente em 1945 e utilizados até a metade da década de 1960 no controle de insetos nocivos na agricultura, na silvicultura, na proteção de construções e no ambiente doméstico (ECOBICHON, 1996; SMITH, 2001).

### **1.1.2 Características Gerais**

Os inseticidas organoclorados pertencem ao grupo de praguicidas que se caracterizam por conter carbono, cloro, hidrogênio e um ou mais anéis aromáticos cíclicos saturados em sua estrutura (IYANIWURA, 1991). Suas propriedades como baixa volatilidade, estabilidade química, lipossolubilidade, taxas de biotransformação e degradação lentas, fazem destas substâncias químicas inseticidas eficientes. Devido a persistência no solo e nos sedimentos aquáticos, e ao potencial de bioacumulação em pássaros e mamíferos nos níveis mais altos da cadeia alimentar, inclusive no homem, são considerados poluentes ambientais de grande importância e responsáveis por diversos problemas de saúde no homem. Por esta razão, embora eficientes no controle das pragas, são proibidos ou controlados na maioria dos países, mas extensivamente utilizados nos países em desenvolvimento devido ao baixo custo de produção e à alta eficiência (ECOBICHON, 1996; WIKTELIUS et al, 1997).

Devido sua alta lipossolubilidade, os inseticidas organoclorados são absorvidos pelas vias cutânea, digestiva e respiratória, e concentram-se nos tecidos corporais que apresentam alto conteúdo lipídico (fígado, rins, sistema nervoso, tecido adiposo). Nesses tecidos produz efeitos biológicos, e particularmente no tecido adiposo permanecerão estocados e inalterados. A biotransformação é lenta e deve-se em parte às complexas estruturas de anéis aromáticos e à extensa cloração destes compostos, e à dificuldade da remoção dos anéis aromáticos através dos processos enzimáticos disponíveis nos tecidos corporais (ECOBICHON, 1996). A eliminação é principalmente urinária, podendo ser encontrado também no leite materno (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1998).

Os organoclorados atuam nas fibras nervosas e no córtex motor do sistema nervoso central (SNC). A exposição de mamíferos a esses inseticidas resulta em alterações do comportamento, do equilíbrio e da atividade da musculatura involuntária, além de distúrbios sensoriais e depressão dos centros vitais, particularmente da respiração (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1998).

Em mulheres gestantes podemos encontrar concentrações reduzidas de alguns organoclorados e de seus metabólitos no tecido adiposo em comparação com as encontradas em mulheres não-gestantes, sugerindo possível aumento na metabolização desses compostos durante a gestação (POLISHUK et al, 1970).

Estudos demonstram que os inseticidas organoclorados atravessam a barreira placentária (POLISHUK et al, 1970), e apresentam potente atividade estrogênica e de indução enzimática, interferindo direta ou indiretamente na reprodução de mamíferos (ECOBICHON, 1996). Revisão feita por Nunes e Tajara (1998) relatou aumento na incidência de alterações no desenvolvimento do trato reprodutivo e na fertilidade masculina decorrentes das propriedades estrogênicas e anti-androgênicas dos organoclorados, assim como possível atividade genotóxica destes compostos.

Em aves, os efeitos sobre a reprodução estão relacionados ao metabolismo de esteróides e à inabilidade do pássaro de mobilizar cálcio suficiente para produzir a casca do ovo. Deste modo, a produção de uma casca menos espessa torna-a

incapaz de resistir aos impactos do ninho, resultando em rachaduras que permitem a entrada de bactérias, causando assim a morte do embrião. Por sua vez, a reprodução de peixes é afetada pela bioacumulação dos organoclorados no saco vitelínico do embrião em desenvolvimento (ECOBICHON, 1996).

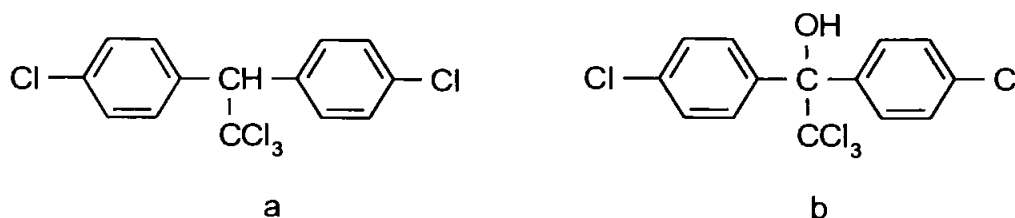
## 1.2 Dicofol

### 1.2.1 Informações Gerais

Dentre os inseticidas organoclorados, ainda utilizados, encontra-se o dicofol, introduzido comercialmente em 1955 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). O dicofol, 2,2,2-tricloro-1,1-bis(4-clorofenil)etanol (nome IUPAC), também conhecido como kelthane, é um praguicida acaricida organoclorado não-sistêmico, com ação de contato, pouca atividade inseticida, recomendado para controle de ácaros fitófagos (incluindo *Panonychus*, *Phyllocoptruta*, *Tetranychus* e *Brevipalpus* spp.) em uma ampla variedade de culturas, incluindo frutas, vegetais e plantas ornamentais (TOMLIM, 2000; SMITH, 2001). Em muitos países é utilizado principalmente no combate a ácaros resistentes aos praguicidas organofosforados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974). No Brasil pertence à classe toxicológica II - altamente tóxico, e é aplicado nas partes aéreas das culturas de algodão, cítricos e maçã com intervalo de segurança de 14 dias (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2000). A Organização Mundial da Saúde estabeleceu para o dicofol a Ingesta Diária Aceitável (IDA) de 0,002 mg/kg peso corpóreo baseada no NOEL (dose onde não se observa efeitos tóxicos) obtido em testes de toxicidade crônica em ratos que foi de 0,22 mg/kg/dia (RASENBERG, 2003).

O dicofol é fabricado através da hidroxilação do DDT, e a composição final do ingrediente ativo é de 80-85% de p,p'-dicofol e 15-20% de o,p'-dicofol (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). A substituição de um átomo de hidrogênio na posição 1 do DDT por um grupo hidroxila (Figura 1) resulta em uma alteração fundamental das propriedades químicas e aumenta a instabilidade da molécula (ROBERTS; HUTSON, 1999). Um dos produtos intermediários obtidos durante a fabricação do dicofol é o DDT, e em 1986, o uso do dicofol foi temporariamente cancelado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA)

devido aos níveis relativamente altos do contaminante DDT no produto final. Foi liberado novamente para uso quando foi demonstrado que processos modernos de fabricação produzem dicofol em grau técnico com menos de 0,1% de impurezas relacionadas ao DDT (DDT,  $\alpha$ -cloro-DDT, DDE e DDD) (RASENBERG, 2003).



**Figura 01.** Estrutura química do DDT (a) e do dicofol (b).

Nos mamíferos o dicofol é extensamente absorvido no trato gastrointestinal, e concentrações teciduais altas são encontradas no tecido adiposo, seguido pelas glândulas adrenais, tireóide e fígado. O isômero p,p'-dicofol, principal componente, é mais persistente no organismo do que o isômero o,p'-dicofol, sendo que fêmeas tendem a acumular dicofol em maior quantidade que machos. São mais polares que os outros inseticidas organoclorados e, portanto, são menos persistentes no organismo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Estudos de metabolismo em ratos demonstraram que, após administração oral, o dicofol é metabolizado principalmente a 4,4'-diclorobenzofenona (DCBP) e a 4,4'-diclorodicofol. O dicofol é estocado no tecido adiposo e nos músculos, e é excretado principalmente pelas fezes e, em menor extensão, pela urina (BROWN et al, 1969). Após administração de uma dose oral única de 50 mg/kg de dicofol a ratos, quase toda a dose é eliminada em um prazo de 196 horas, com pico de concentração nos tecidos ocorrendo entre 24 e 48 horas. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

### 1.2.2 Toxicidade em Mamíferos

O dicofol é considerado moderadamente tóxico aos mamíferos. A literatura relata que a  $DL_{50}$  oral em ratos varia de 575 a 809 mg/kg (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993, 1996; TOMLIM, 2000; SMITH, 2001). Apresenta toxicidade

oral aguda moderada e em animais de laboratório produzem sinais de toxicidade consistentes com a depressão do SNC. Os sinais mais comuns de toxicidade incluem diminuição da atividade motora espontânea, ataxia, passividade, sonolência, prostração e ocasionalmente tremores (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993). Estudos e relatos de caso em humanos indicam que a exposição a altas doses de dicofol resulta em distúrbios do equilíbrio, vertigens, confusão, dores de cabeça, tremores, fadiga, vômitos e perda da consciência, além de dificuldades emocionais e cognitivas persistentes (EVANGELISTA DE DUFFARD; DUFFARD, 1996).

O mecanismo de ação ocorre através da estimulação da transmissão axonal dos sinais nervosos, e acredita-se que esteja relacionado com a inibição de ATPases no SNC, associadas com a fosforilação oxidativa e transporte de cátions nas membranas plasmáticas (HAZARDOUS SUBSTANCES DATABASE, 2000).

Estudos crônicos em ratos demonstraram que a administração de dicofol em doses acima de 25 mg/kg/dia na dieta por um período de 90 dias resulta em aumento da indução enzimática hepática, diminuição do peso corporal, diminuição dos níveis de corticosterona e alterações no fígado, nas glândulas adrenais e nos rins. A exposição de ratos a doses acima de 2,5 mg/kg/dia, administradas através da dieta e durante 2 anos, resultou na incidência de alterações hepáticas tais como aumento do fígado e indução enzimática, além de efeitos nas glândulas adrenais e bexiga urinária. Não há evidências de carcinogenicidade em ratos. Em camundongos foi observado aumento na incidência de adenomas e carcinomas no fígado de camundongos machos com doses acima de 4 mg/kg/dia, sem evidência de carcinogenicidade em fêmeas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

### **1.2.3 Efeitos Reprodutivos**

Efeitos reprodutivos relacionados à exposição de ratos ao dicofol foram observados somente com doses suficientemente altas para causar efeitos tóxicos no fígado, ovários e alterar o comportamento alimentar. Estudo em duas gerações de ratos expostas a doses acima de 25 ppm (aproximadamente 2 mg/kg/dia) resultou em toxicidade parental, caracterizada por alterações histopatológicas no fígado e nos ovários. Não foram observadas alterações nos parâmetros reprodutivos e,



apenas doses acima de 125 ppm (aproximadamente 10 mg/kg/dia) resultaram no aparecimento de toxicidade fetal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

Em estudo realizado por Jadaramkuntí e Kaliwal (2002), administrando 500 mg/kg/dia de formulação comercial do dicofol (18% W/W) a ratos machos durante 30 dias, observaram atividade estrogênica do praguicida com efeitos anti-espermatogênico e anti-androgênico. Os autores sugerem que a toxicidade pode ser atribuída a efeitos diretos no testículo, à ação indireta no hipotálamo e/ou hipófise, ou à dessensibilização dos testículos às gonadotropinas. Os mesmos autores, em trabalho anterior, observaram que ratas submetidas a doses acima de 30 mg/kg/dia da mesma formulação comercial (18% W/W) por um período de 30 dias apresentaram diminuição do número de ciclos estrais, redução da duração das fases proestro e diestro, e aumento da fase estro. Além disso, a avaliação dos ovários revelou diminuição do número de folículos saudáveis com concomitante aumento do número de folículos em atresia (JADARAMKUNTI; KALIWAL, 1999).

Os efeitos no período de pré-implantação foram estudados por Lemonica e Alvarenga (1995). Os autores verificaram que a administração de dicofol a ratas prenhes em doses únicas de 1, 2 e 4 mg/kg, no período que antecede a implantação embrionária, não resulta em efeitos embriotóxicos ou embrioletais e não interfere com a implantação embrionária. Entretanto, Jadaramkuntí e Kaliwal (2001) utilizando a formulação comercial do dicofol (18% W/W) nas doses de 600 e 700 mg/kg/dia verificaram atividade antiimplantação, evidenciada pela diminuição da fase proestro e aumento da duração da fase estro do ciclo estral, que pode estar relacionada a um desequilíbrio dos níveis de estrógeno e de progesterona.

A teratogenicidade do dicofol foi estudada em ratos expostos no período entre os dias 6 a 15 de gestação. A exposição à dose de 25 mg/kg/dia resultou em toxicidade materna caracterizada por redução do peso corporal e no consumo de ração durante o período de tratamento, além de aumento do peso relativo do fígado dos animais sem causar, entretanto, efeitos embriofetotóxicos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

Lemonica et al (1993) procurando verificar se as alterações homeostáticas resultantes de uma dieta materna inadequada iriam interagir com os efeitos dos agentes químicos, submeteram ratas malnutridas à dose de 2 mg/kg/dia de dicofol do dia 4 a 15 de gestação. Os autores verificaram que o tratamento não alterou os parâmetros estudados em ambos os grupos normal e malnutrido, exceto pela porcentagem de ratas gestantes que foi maior nos grupos tratados com dicofol (normal e malnutrido). Os autores sugerem possível atividade hormonal do praguicida, que atuaria facilitando a implantação embrionária.

### 1.3 Estresse – Revisão de Literatura

A capacidade do organismo em manter suas condições internas constantes e estáveis é chamada de homeostase (GUYTON & HALL, 1996). A homeostase implica em que os aspectos do ambiente interno, ou "*milieu* interno" (como a temperatura corporal, a glicose no sangue, o conteúdo hídrico, dentre outros) e os do ambiente (como o posicionamento dentro de um grupo social) sejam mantidos constantes ou pelo menos em um nível predizível por um certo período de tempo. Os fatores ambientais podem desafiar o balanço biológico, e quando o animal encontra-se hábil a adaptar-se a estas alterações sem quaisquer problemas, diz-se que está em homeostase ou em equilíbrio. Entretanto, quando o animal não se apresenta apto a manter a homeostase, o estresse desenvolve-se no decorrer do tempo (KOOLHAAS et al, 2001).

O termo estresse, do inglês *stress*, significa "estar sob pressão" ou "estar sob ação de um estímulo persistente". Esse termo foi introduzido e popularizado como um conceito médico e científico em 1936 por Hans Selye, que o definiu como um conjunto de respostas fisiológicas não-específicas do organismo em resposta a qualquer estímulo reconhecido como averso ou perigoso. Essa definição foi baseada na observação de uma tríade patológica (aumento da adrenal, úlcera gástrica e involução do timo) induzida por uma ampla variedade de estressores, incluindo infecções bacterianas, toxinas, irradiações e vários estímulos físicos como cirurgia e exercício muscular (PACÁK; PALKOVITS, 2001). Dentre as patologias que podem estar associadas ao estresse incluem o diabetes esteroideal, hipertensão, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, amenorréia, disfunções sexuais, além de déficits

---

no crescimento e distúrbios no SNC, tais como depressão e alteração de humor (MEANEY et al, 1993).

### 1.3.1 Respostas ao Estresse

Em 1950, Selye introduziu o termo "Síndrome Geral de Adaptação" ao estresse, constituída de três diferentes fases. A primeira é a fase de alarme, caracterizada por uma reação fisiológica direta a um estressor. Nesta fase o organismo reconhece o estressor e entra em estado de alerta. Após um determinado período esta reação modifica-se para a segunda fase, a de resistência. Nesta fase o animal procura adaptar a sua fisiologia à presença contínua do estressor, mobilizando energia e buscando a homeostase. Com a persistência de estímulos estressores, o organismo entra na terceira fase, o estado de exaustão, quando começam a falhar os mecanismos de adaptação e ocorre déficit das reservas de energia. Nesta fase a capacidade fisiológica do animal não é suficiente para encontrar as demandas ambientais (PACÁK; PALKOVITS, 2001).

Deste modo, quando o cérebro de um animal interpreta algum estímulo ou situação como ameaçadora, o organismo irá apresentar uma resposta fisiológica e comportamental iniciada, coordenada e integrada pelo SNC. A resposta fisiológica é feita por duas principais vias no SNC: o sistema endócrino e o sistema nervoso autônomo (SNA) (KOOLHAAS et al, 2001).

O sistema classicamente envolvido na resposta neuroendócrina ao estresse é o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Através da estimulação das células do núcleo paraventricular do hipotálamo, ocorre a secreção do fator liberador de corticotropina (CRF) e também da arginina vasopressina (AVP). Estes neuropeptídeos, principalmente o CRF, estimulam a adenohipófise a produzir e a liberar o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). O ACTH, através da circulação sistêmica, é transportado para as glândulas adrenais onde estimula a produção e a liberação de hormônios adrenais, principalmente os glicocorticóides. Em roedores o principal glicocorticóide é a corticosterona e em humanos o cortisol (EMANUELLE; EMANUELLE, 1997).

Os hormônios glicocorticóides aumentam o catabolismo e inibem processos anabólicos através do aumento dos níveis circulantes de substratos energéticos como a glicose, os ácidos graxos livres e os aminoácidos livres, aumentando o fornecimento metabólico para enfrentar a situação estressante. A resposta imune e os processos envolvendo crescimento celular e reprodução são temporariamente inibidos de forma a permitir que o animal utilize os recursos para a ação (EMANUELLE; EMANUELLE, 1997; KOFMAN, 2002; OLIVERIO, 1988;). Persistentes elevações dos níveis plasmáticos de glicocorticóides podem resultar em efeitos deletérios no organismo devido à supressão desses processos anabólicos e imunológicos (MEANEY et al, 1993).

Entretanto, mecanismos de retroalimentação negativa no hipotálamo e na hipófise, sensíveis aos níveis de glicocorticóides, inibem a atividade do eixo HPA, diminuindo a liberação de ACTH e CRF. (EMANUELLE; EMANUELLE, 1997; KOFMAN, 2002; OLIVERIO, 1988;).

Além do eixo HPA outro sistema envolvido nas respostas ao estresse é o SNA, através do eixo simpático-medula adrenal. No início do século XX, Cannon reconheceu a importância do sistema nervoso simpático e sua inervação na medula adrenal na resposta fisiológica ao estresse, fornecendo uma ativação extra do organismo nas situações de estresse. Deste modo, a exposição a um agente estressor pode resultar em uma grande descarga simpática. Devido à ampla distribuição das fibras nervosas simpáticas, esta descarga é observada através de parâmetros fisiológicos como aumento dos níveis de adrenalina e de noradrenalina plasmática, aumento da pressão sanguínea e dos batimentos cardíacos, elevação da temperatura corporal e alterações do sistema imune. A adrenalina possui função estimulatória e resulta no aumento do fornecimento de glicose, através do aumento da degradação de glicogênio no fígado, do desvio de sangue das vísceras e músculos, além do aumento dos processos lipolíticos. Cannon chamou este padrão de reações como resposta de "luta ou fuga", caracterizada por alterações fisiológicas imediatas permitindo ao animal enfrentar o estressor ou fugir o mais rápido possível (OLIVERIO, 1988; KOOLHAAS et al, 2001).

Recentes estudos mostram que a atividade simpática pode ser também limitada a certas partes do SNA. Por exemplo, os estressores psicológicos geralmente resultam em aumento da adrenalina plasmática devido à ativação seletiva na medula adrenal, enquanto que a noradrenalina liberada pelas terminações nervosas simpáticas é normalmente associada com a atividade física. Ambos os sistemas simpático e parassimpático estão ativos e em equilíbrio na reação ao estressor, e podem ser ativados separadamente por agentes estressores específicos. Deste modo, a resposta ao estresse fisiológico agudo possui duas funções: organizar o organismo para lidar comportamentalmente e fisiologicamente com o desafio, e ao mesmo tempo, facilitar os processos de aprendizado e memória que permitem ao animal reagir mais adequadamente a estressores similares no futuro (KOOLHAAS et al, 2001; GUYTON; HALL, 1996).

Tem-se evidenciado que as respostas ao estresse não estão limitadas aos efeitos periféricos dos eixos HPA e simpático-medula adrenal, mas também ao envolvimento de reações neuroquímicas (monoaminérgicas) no cérebro. Além da resposta de ativação do sistema simpático periférico há também a ativação dos neurônios catecolaminérgicos cerebrais que elevam os níveis de catecolaminas em regiões distintas do cérebro, levando ao acúmulo de catecolaminas (originárias da tirosina), e do aumento da utilização de dopamina em determinadas regiões do cérebro, como no córtex frontal ou cingular. Deste modo, juntamente com o ACTH, são liberadas  $\beta$ -endorfinas e  $\beta$ -lipotropinas nas situações de estresse (OLIVERIO, 1988; PACÁK; PALKOVITS, 2001). Segundo Oliverio (1988), o sistema dopaminérgico atua em resposta ao estresse quando ocorre excessiva estimulação do sistema nervoso simpático. Deste modo, os neurônios dopaminérgicos exercem efeito estimulatório na liberação de CRF e ACTH quando a adrenalina secretada pela medula adrenal passa a inibir o CRF.

Estudos realizados nas últimas décadas têm revelado que muitos outros sistemas neuroendócrinos respondem ao estresse, além dos envolvidos na regulação das adrenais (CRF, ACTH). Dentre esses incluem os sistemas envolvidos na reprodução (FSH, LH, testosterona, estrógeno, prolactina), no metabolismo (hormônio do crescimento, tirotropina, tiroxina, insulina) e na regulação da pressão sanguínea e dos fluidos corporais (vasopressina, ocitocina). Os efeitos do estresse

nesses sistemas neuroendócrinos podem ser diretos ou indiretos, através da interação com outros sistemas neuroendócrinos (KOOLHAAS et al, 2001).

### **1.3.2 Estresse Pré-Natal**

Estudos em humanos têm associado o estresse materno durante a gestação a resultados adversos como parto prematuro, baixo peso ao nascimento (para a idade gestacional), redução da circunferência craniana (em relação ao peso nascimento) e piora da pontuação no exame neurológico do neonato, indicando que o estresse pré-natal afeta diretamente o desenvolvimento do cérebro do feto. Estudos epidemiológicos mostram que variações no ambiente pré-natal, como as alterações endócrinas e metabólicas maternas, podem influenciar as respostas fisiológicas da progênie assim como a susceptibilidade de psicopatologias, como a esquizofrenia, na idade adulta (HUIZINK et al, 2000).

Em animais de laboratório, diferentes agentes estressogênicos vêm sendo utilizados e incluem ruídos, choques elétricos, temperaturas extremas, contenção física entre outros. Esses fatores quando presentes no período pré-natal resultam no aparecimento de efeitos adversos no desenvolvimento da prole tais como baixo peso ao nascimento, retardos no desenvolvimento, aumento na incidência malformações (BARLOW et al, 1975), além de alterações no desenvolvimento comportamental (STOTT, 1973) e alterações reprodutivas pós-natal (HERRENKOHL, 1979). Além disso, o estresse materno pré-natal pode aumentar o potencial teratogênico de drogas, como descrito por Goldman e Yakovac (1963) que observaram aumento na incidência de teratogenicidade na prole de ratas submetidas ao estresse e aos salicilatos durante o período de gestação, sugerindo uma interação entre esses dois fatores.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos Gerais**

Verificar se a adição de um risco agregado, o estresse por contenção, à exposição ao dicofol durante o período gestacional, resultará em alterações no desenvolvimento embriofetal e no desenvolvimento físico e comportamental da prole.

### **2.2 Objetivos Específicos**

1. Verificar se a administração de dicofol durante o período organogênico e fetal de ratas estressadas resultará em embriofetotoxicidade.

2. Verificar se a administração de dicofol durante o período fetal de ratas estressadas acarretará em alterações no desenvolvimento físico e comportamental da prole.

---

### **3. MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Droga e Via de Administração**

Foi utilizado o dicofol técnico (CAS 115-32-2, lote número 355IG10, 92,3% de pureza) fornecido pela Dow Agrosciences. Para cada concentração desejada, uma quantidade apropriada do dicofol foi pesada e diluída em óleo de milho. As soluções foram preparadas a cada 2 dias e armazenadas à temperatura ambiente. As concentrações em mg/mL foram 1, 2 e 4, correspondentes às doses de 5, 10 e 20 mg/kg/dia. O volume máximo administrado foi de 0,5 mL/100g de peso corporal. A via de administração escolhida foi a oral, através de gavagem, por possibilitar o conhecimento exato da dose a ser administrada, e por ser a que mais se assemelha às condições de exposição do homem.

#### **3.2 Animais**

Foram utilizados ratos *Wistar* fêmeas, adultas, saudáveis, nulíparas, com aproximadamente 70 dias de idade, e machos da mesma linhagem, adultos e saudáveis, ambos provenientes do Biotério de Criação da BIOAGRI Laboratórios Ltda. Estes animais foram aclimatados por um período mínimo de 5 dias antes do início do estudo.

#### **3.3 Manutenção dos Animais**

Os animais foram mantidos na sala de animais do Biotério V da BIOAGRI Laboratórios Ltda., com temperatura entre  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de 30-70%, ciclo de 12h claro/12h escuro e com no mínimo 10 trocas de ar por hora. Durante o período do estudo os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno (40x25x20 cm), cobertas por grades metálicas, e forradas com maravalha. As caixas foram acondicionadas nas estantes de forma a garantir condições experimentais uniformes (de ventilação e de luz). Durante os períodos de aclimação e de



acasalamento, as fêmeas foram acondicionadas no número de duas por caixa, e durante os períodos de gestação e lactação individualmente nas caixas.

Ração comercial peletizada para roedores (Nuvilab CR-1, Nuvital Nutrientes Ltda.) e água potável em bebedouros foram fornecidos *ad libitum* durante o estudo.

### **3.4 Bem-Estar Animal**

Este estudo foi conduzido em conformidade com todas as leis aplicáveis ao bem-estar animal, cuidado e uso humanitário de animais de laboratório (Lei Federal Nº 6.638 de 08 de maio de 1979)<sup>1</sup>.

### **3.5 Grupos Experimentais**

Os grupos experimentais, cada qual com 15 animais, foram assim constituídos:

**Experimento 1: Efeitos no Desenvolvimento Embrionfetal** - constituído de 4 grupos de fêmeas que foram estressadas e receberam o tratamento nas doses de 5, 10, 20 mg/kg/dia ou apenas óleo de milho (controle) nos dias 5 a 19 de gestação. Outros 4 grupos foram constituídos de fêmeas não-estressadas, que receberam o tratamento nas doses de 5, 10, 20 mg/kg/dia ou apenas óleo de milho (controle) nos dias 5 a 19 de gestação.

**Experimento 2: Efeitos no Desenvolvimento Pós-Natal** - constituído de 4 grupos de fêmeas que foram estressadas e receberam o tratamento nas doses de 5, 10, 20 mg/kg/dia ou apenas óleo de milho (controle) nos dias 14 a 20 de gestação. Outros 4 grupos foram constituídos de fêmeas não-estressadas, que receberam o tratamento nas doses de 5, 10, 20 mg/kg/dia ou apenas óleo de milho (controle) nos dias 14 a 20 de gestação.

<sup>1</sup> BRASIL. Lei nº 6.638 de 08 de Maio de 1979. Estabelece prática didático-científica da vivisseção de animais e determina outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 maio 1979.

### **3.6 Procedimento Experimental**

#### **3.6.1 Acasalamento e Diagnóstico de Prenhez**

Para o acasalamento as ratas foram distribuídas duas a duas em caixas de polipropileno, na qual, ao final da tarde foi colocado um rato macho. Os animais permaneceram juntos durante toda a noite. Na manhã seguinte os machos foram retirados das caixas e foi feita a coleta do material vaginal das ratas, tomando-se o cuidado de não estimular o cérvix, evitando assim a indução de pseudo-prenhez. Os fatores indicativos de prenhez foram a presença de espermatozóides e a determinação da fase estro do ciclo estral (fase estrogênica máxima caracterizada pela presença de células queratinizadas no esfregaço vaginal). O dia do diagnóstico de prenhez foi considerado como dia 0 de gestação.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos diferentes grupos experimentais, e estes procedimentos realizados repetidamente até que o número de réplicas desejado para os grupos experimentais fosse alcançado.

#### **3.6.2 Indução do Estresse Materno**

As ratas dos grupos estressados foram submetidas ao estresse por contenção durante o período de tratamento, diariamente, pelo período de uma hora, sempre no mesmo horário. A imobilização foi feita em cilindros plásticos transparentes (6,0 cm diâmetro X 15,0 cm de comprimento regulável), com aberturas frontal e traseira de modo a permitir a ventilação.

Este período de contenção foi escolhido através de dados da literatura no intuito de não obtermos um nível de estresse muito elevado, que viria a resultar em reabsorção fetal, ou muito prolongado, que poderia resultar em adaptação.

#### **3.6.3 Dosagem de Corticosterona**

A efetividade do estresse foi avaliada através dos níveis de corticosterona plasmática materna. O sangue materno foi coletado através da punção da veia da cauda em 3 diferentes dias, referentes ao início, meio e final do período de indução de estresse. As amostras foram coletadas imediatamente após a sessão de

estresse, com exceção da primeira coleta (início do período de indução) que foi realizada antes do procedimento de estresse no intuito de obter os níveis plasmáticos basais. O anticoagulante utilizado foi o EDTA, e após a coleta o sangue foi centrifugado a 3500 rpm durante 15 minutos, e o plasma obtido foi congelado em tubos *ependorfs* à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , até a realização da dosagem hormonal por técnica de radioimunoensaio, no Laboratório de Radioimunoensaio do Departamento de Psicobiologia – AFIP (Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacobiologia, da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Para a análise foi utilizado um conjunto de reagentes comerciais (ICN Biomedicals, Inc-Diagnostic Division, Costa Mesa, CA, EUA).

### **3.6.4 Experimento 1 – Efeitos no Desenvolvimento Embrionfetal**

#### **3.6.4.1 Avaliação Materna**

Durante o período de gestação, o peso corporal das ratas foi verificado nos dias 0, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 de gestação. O ganho de peso corporal foi calculado a partir destas observações. O ganho de peso corrigido foi calculado pelo peso corporal materno no dia 20 de gestação menos o peso corporal no dia 5 de gestação menos o peso do útero (com todo o seu conteúdo). O consumo de ração foi verificado nos dias 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 20 de gestação e expresso em gramas/animal/dia.

Os animais foram avaliados diariamente quanto a mortalidade e sinais clínicos de intoxicação.

#### **3.6.4.2 Laparotomia e Performance Reprodutiva Materna**

Ao final do dia 20 de gestação, as ratas foram mortas por inalação de  $\text{CO}_2$ . Foi feita a laparotomia e os cornos uterinos foram expostos, removidos e pesados (com todo o conteúdo). Foi feita a abertura do útero para observação e contagem dos pontos de implantação, reabsorções (precoces e tardias), número de fetos vivos e mortos, e posição dos fetos no útero.

Os ovários foram retirados, observados e os corpos lúteos contados, para avaliação da quantidade de óvulos eliminados.

A porcentagem de perda embrionária pré-implantação foi determinada através da seguinte proporção:

$$\% \text{ perda pré-implantação} = \frac{\text{n}^\circ \text{ corpos lúteos} - \text{n}^\circ \text{ implantação}}{\text{n}^\circ \text{ corpos lúteos}} \times 100$$

Para a determinação da perda embrionária pós-implantação, utilizamos a proporção:

$$\% \text{ perda pós-implantação} = \frac{\text{n}^\circ \text{ implantação} - \text{n}^\circ \text{ fetos vivos}}{\text{n}^\circ \text{ implantação}} \times 100$$

Foi realizada a análise dos pontos de reabsorção e de implantação através da técnica de coloração com reativo de Salewsky (SALEWSKY, 1964), o qual permite a visualização das implantações e de reabsorções em estágios iniciais de implantação.

As fêmeas foram avaliadas macroscopicamente e foi feita a pesagem dos seguintes órgãos:

- rins (direito e esquerdo);
- glândulas adrenais (direita e esquerda);
- baço;
- fígado;
- timo;
- hipófise.

#### **3.6.4.3 Avaliação dos Fetos**

Após retirados dos cornos uterinos, cada feto foi pesado, o sexo determinado (com base na distância anogenital) e examinados macroscopicamente quanto a alterações externas. A viabilidade dos fetos e as condições da placenta, do cordão

umbilical e das membranas fetais foram avaliadas. As placentas foram pesadas individualmente.

Após estas avaliações, aproximadamente metade da ninhada foi colocada em acetona e a outra metade na solução de Bouin, e os fetos foram preparados para as avaliações esquelética e visceral.

### **Análise das Anomalias e/ou Malformações Externas**

Os fetos foram examinados externamente mediante análise minuciosa dos olhos, da boca, da implantação das orelhas, da conformação craniana, dos membros anteriores e posteriores, da perfuração anal e cauda.

### **Análise das Anomalias e/ou Malformações Esqueléticas**

Após fixação em acetona, os fetos foram eviscerados, diafanizados e corados de acordo com o método proposto por Staples e Schenell (1964). Foi realizada a análise das possíveis anomalias e/ou malformações esqueléticas e a contagem dos seguintes pontos de ossificação: esternóbrios, falanges anteriores e posteriores, metacarpos, metatarsos e vértebras caudais, segundo método proposto por Aliverti et al (1979), que determina o grau de desenvolvimento fetal.

### **Análise das Anomalias e/ou Malformações Viscerais**

Após fixação em solução de Bouin, os fetos foram observados quanto a possíveis anomalias e/ou malformações viscerais de acordo com o método de secções seriadas de Wilson (WILSON, 1965).

#### **3.6.4.4 Critérios de Avaliação dos Esqueletos e Órgãos dos Fetos**

As seguintes definições foram utilizadas para a descrição dos achados fetais:

- malformações (anormalidades maiores): alterações estruturais permanentes, geralmente raras, que podem influenciar adversamente a sobrevivência, o desenvolvimento ou a função;

- variações (anormalidades menores): alterações estruturais com poucos ou sem efeitos deletérios, que podem ser transitórias e ocorrer com relativa frequência na população controle;

- retardos (somente em observações esqueléticas): atrasos transitórios no desenvolvimento esquelético, que pode não afetar adversamente a sobrevivência, o desenvolvimento ou a função;

- observações não-classificadas: observações externas ou viscerais, que não podem ser classificadas como malformações ou variações.

### **3.6.5 Experimento 2 – Efeitos no Desenvolvimento Pós-Natal**

#### **3.6.5.1 Avaliação Materna**

Durante o período de gestação, o peso corporal das ratas foi verificado nos dias 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20 de gestação, e durante o período de lactação nos dias 0, 4, 7, 14 e 21 de lactação. O ganho de peso corporal foi calculado a partir destas observações. O consumo de ração foi verificado a cada 3 dias durante os períodos de gestação e de lactação e expresso em gramas/animal/dia. O peso corporal e o consumo de ração durante a lactação não foram verificados nas fêmeas sem filhotes viáveis.

Durante a gestação e a lactação, os animais foram avaliados diariamente quanto a sintomas clínicos de intoxicação e mortalidade.

As ratas foram observadas também quanto ao seu comportamento materno, conforme proposto por Sordestein e Eneroth (1984). Para cada comportamento apresentado pela rata foi atribuída uma nota de acordo com a Tabela 1. Esta observação foi feita diariamente, do dia 20 de gestação ao dia 21 pós-natal. Os escores obtidos foram somados e os resultados apresentados por média semanal durante o período de lactação.

**Tabela 1.** Escala de escores para a quantificação do comportamento materno.

| <b>Escores</b> | <b>observações</b>                               |
|----------------|--|
| 0              | ausência de ninho                                |
| 1              | presença de ninho                                |
| 2              | todos os filhotes no ninho                       |
| 3              | todos os filhotes no ninho com a mãe             |
| 4              | todos os filhotes no ninho com a mãe amamentando |

### 3.6.5.2 Avaliação do Desenvolvimento Pós-Natal dos Filhotes

A partir do dia 20 de gestação, as fêmeas foram avaliadas quanto à evidência de início e término do parto. Todas as fêmeas foram deixadas parir a termo e a cuidar e amamentar naturalmente a ninhada até o dia 21 de lactação. O dia do nascimento foi considerado como dia 0 pós-natal, ou dia 0 de lactação.

Foi feito o cálculo do índice de gestação de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de gestação (\%)} = \frac{\text{número de fêmeas com filhotes viáveis no dia do nascimento}}{\text{número de fêmeas prenhes}^1} \times 100$$

<sup>1</sup> Fêmea com filhotes no parto ou com fetos *in utero*.

Antes do manuseio dos filhotes alguns cuidados foram tomados. As mãos foram lavadas em água corrente e depois esfregadas na ração e na maravalha que serviu de cama aos animais. Os filhotes foram retirados delicadamente das gaiolas após contato prévio com a mão do pesquisador.

No dia do nascimento foi determinado o número total de filhotes viáveis e mortos e foi feita a avaliação quanto à presença de malformações e/ou anomalias externas. Foi realizada também a determinação do sexo e da distância anogenital dos filhotes viáveis.

O índice de nascidos vivos foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de nascidos vivos (\%)} = \frac{\text{número de filhotes viáveis no nascimento}}{\text{número total de filhotes nascidos}} \times 100$$

No dia 4 pós-natal foi realizada a padronização das ninhadas em número e sexo (4 machos e 4 fêmeas), sempre que possível, e estes filhotes foram submetidos à avaliação pós-natal.

Durante todo o período de lactação foi feita a verificação do número de filhotes mortos. Para o cálculo dos índices de viabilidade e lactação, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\text{Índice de viabilidade (\%)} = \frac{\text{número de filhotes vivos no dia 4 pós-natal}^1}{\text{número de filhotes vivos no dia do nascimento}} \times 100$$

$$\text{Índice de lactação (\%)} = \frac{\text{número de filhotes vivos no dia 21 pós-natal}}{\text{número de filhotes vivos no dia 4 pós-natal}^2} \times 100$$

<sup>1</sup> antes da padronização das ninhadas.

<sup>2</sup> após padronização das ninhadas.

A razão sexual dos filhotes foi calculada nos dias 0 e 21 pós-natal de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Razão sexual (\%)} = \frac{\text{número de filhotes machos viáveis no dia 0 ou 21 pós-natal}}{\text{número de filhotes machos e fêmeas viáveis nos dias 0 ou 21 pós-natal}} \times 100$$

As avaliações do desenvolvimento físico e comportamental foram realizadas segundo metodologia proposta por Alder e Zbinden (1977), descritos a seguir.

### **Avaliação do Desenvolvimento Físico**

Após o nascimento, as ninhadas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento físico através de observações diretas, sendo anotado para cada filhote o dia de ocorrência dos seguintes parâmetros:

- aparecimento de pêlos;



- desdobraimento das orelhas;
- erupção dos dentes incisivos;
- abertura dos olhos;
- separação do prepúcio;
- abertura do canal vaginal.

No dia do nascimento (dia 0 pós-natal) e no dia 4 pós-natal (antes da padronização) foi feita a determinação do peso da ninhada e o cálculo da média de peso corporal dos filhotes, e nos dias 4 (após a padronização), 7, 14 e 21 pós-natal, e no dia da maturidade sexual, os filhotes foram pesados individualmente.

### **Avaliação do Desenvolvimento Reflexológico**

Os testes reflexológicos foram realizados até que todos os filhotes de cada ninhada apresentassem os reflexos. Nos casos negativos foram repetidos nos dias subsequentes até ocorrência do reflexo observado.

- Preensão palmar: o animal foi colocado em uma das mãos do pesquisador com a pata dianteira apoiada em um cilindro de superfície lisa, observando-se a resposta de agarrar do animal. Este teste foi realizado a partir do dia 2 pós-natal.

- Reflexo postural: o animal foi colocado sobre uma superfície lisa em decúbito dorsal verificando-se a ocorrência ou não da resposta de girar o corpo para a posição de decúbito ventral, com as 4 patas apoiadas na superfície, em um período máximo de 15 segundos. Este reflexo foi observado a partir do dia 2 pós-natal.

- Reflexo de geotaxia negativa: o animal foi colocado sobre um plano inclinado de 30° com a cabeça voltada para baixo. Foi observada a latência em segundos (não superior a 1 minuto) para que os animais voltem à posição diametralmente oposta, ou seja, com a cabeça voltada para cima. Este reflexo foi observado a partir do dia 7 pós-natal.

## **Avaliação da Atividade Motora**

A avaliação da atividade motora foi realizada através da observação direta dos filhotes em aparelho de campo aberto segundo modelo descrito por Faggin (1982), por um período de 3 minutos, do dia 14 a 21 pós-natal, sempre no período da tarde. O aparelho consistiu de uma arena circular de madeira, medindo cerca de 40 cm de diâmetro por 40 cm de altura, dividida em vinte e cinco partes. Os filhotes foram colocados individualmente no centro da arena e os seguintes parâmetros observados:

- frequência de locomoção: deslocamento do animal de uma divisão da arena para outra. Foi considerada uma unidade de locomoção somente quando o animal penetrou com as 4 patas em uma das divisões da arena.

- frequência de levantar: ato do animal levantar as duas patas anteriores, apoiando-se ou não nas paredes laterais do aparelho, sustentando-se somente nas patas posteriores. Foi considerada uma unidade de levantar quando o animal permaneceu apoiado nas patas posteriores com o tronco perpendicular ao chão, com a cabeça voltada para cima.

- duração de imobilidade: período, em segundos, que o animal não apresentou movimentação física.

- defecação: foram contados os bolos fecais presentes no chão da arena do campo aberto após a observação de cada animal.

- limpeza: foi registrada a duração, em segundos, e o número de vezes em que o animal executou sucessivamente a seguinte sequência: movimento de passar as patas anteriores pela cabeça, focinho e boca, podendo continuar passando as patas por detrás dos pavilhões auriculares e/ou por movimentos de lambar dirigidos às porções laterais do corpo.

Foram observados um macho e uma fêmea de cada ninhada. Ao final da observação de cada animal a arena foi limpa com solução de álcool a 5%, de modo a prover homogeneização da situação experimental.

---

### **3.6.5.2 Necropsia dos animais**

Todos os filhotes não selecionados na padronização do dia 4 pós-natal ou que apresentaram maturidade sexual foram mortos por inalação de CO<sub>2</sub>.

Após o desmame dos filhotes no dia 21 de lactação as mães foram mortas por inalação de CO<sub>2</sub>, avaliadas macroscopicamente, e foi feita a pesagem dos seguintes órgãos:

- rins (direito e esquerdo);
- glândulas adrenais (direita e esquerda);
- baço;
- fígado;
- timo;
- hipófise.

### **3.7 Análise Estatística**

A ninhada foi utilizada como unidade experimental para a análise estatística.

Para a análise estatística dos dados foram utilizados os seguintes testes:

- Análise de Variância (ANOVA), seguido do Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, para dados paramétricos (VIEIRA, 1991);
- Teste de Kruskal-Wallis, seguido do Teste de Comparações Múltiplas de Dunn, para dados não-paramétricos (SIEGEL, 1975);
- Teste Exato de Fisher e Teste do Qui-Quadrado para achados maternos e fetais.

O nível de significância foi considerado em 5%.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Efeitos no Desenvolvimento Embriofetal**

#### **4.1.1 Avaliação da Toxicidade Materna**

##### **4.1.1.1 Observação Clínica**

Não foram observados sinais clínicos de toxicidade nos animais dos diferentes grupos experimentais.

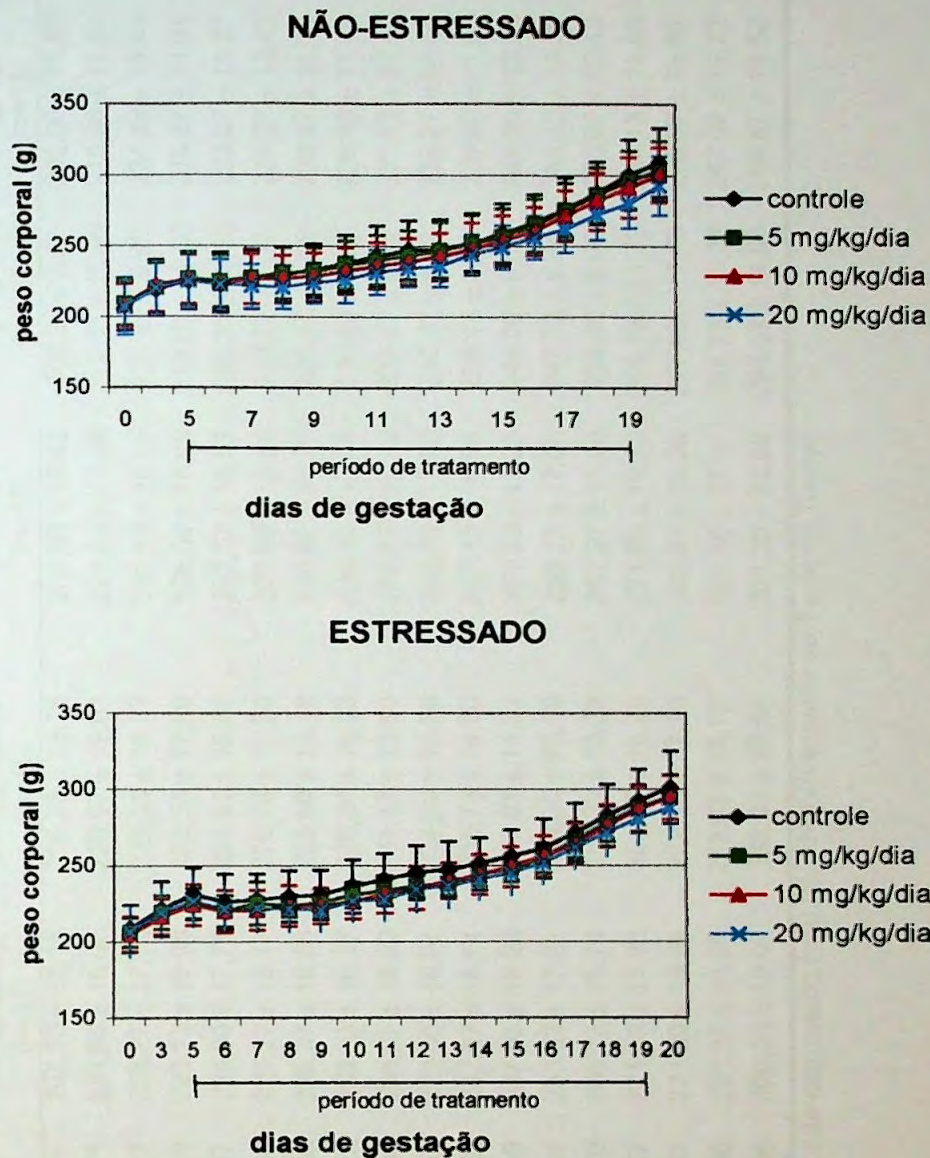
##### **4.1.1.2 Peso Corporal**

Os dados de peso corporal são apresentados na Tabela 2 e Figura 2. Foi verificada redução no peso corporal de ratas não-estressadas tratadas com a dose de 20 mg/kg/dia de dicofol após o início do período de tratamento. Entretanto, essa redução foi apenas estatisticamente significativa no dia 19 de gestação quando comparada com o grupo controle não-estressado e não podemos caracterizar como efeito tóxico do tratamento. Não foram verificadas alterações no peso corporal de ratas stressadas tratadas com a dose de 20 mg/kg/dia em comparação ao grupo controle stressado. Não foram observadas também diferenças significativas entre os grupos stressados e não-estressados tratados com as doses intermediária (10 mg/kg/dia) e menor (5 mg/kg/dia) de dicofol, quando comparados com os grupos controle stressados e não-estressados.

Na análise do ganho de peso corporal (Tabela 3 e Figura 3) foi verificada redução no ganho de peso corporal entre os dias 6 e 9 de gestação e durante todo o período de gestação (nos dias 0 a 20 de gestação) dos animais não-estressados e stressados tratados com a dose de 20 mg/kg/dia de dicofol em comparação ao

grupo controle não-estressado. A redução no ganho de peso corporal está relacionada à redução no consumo de ração (Tabela 5 e Figura 5) dos animais neste mesmo período e não pode ser atribuída ao tratamento ou ao estresse. Não houve diferenças significativas entre os grupos estressados e não-estressados tratados com as doses de 10 ou 5 mg/kg/dia em relação aos grupos controle, e entre os grupos controle estressado e controle não-estressado.

A avaliação do ganho de peso corrigido (Tabela 4 e Figura 4) mostrou haver diferenças significativas entre os animais dos grupos estressados, controle e tratados com dicofol, quando comparados com o grupo controle não-estressado, indicando influência do estresse neste parâmetro.

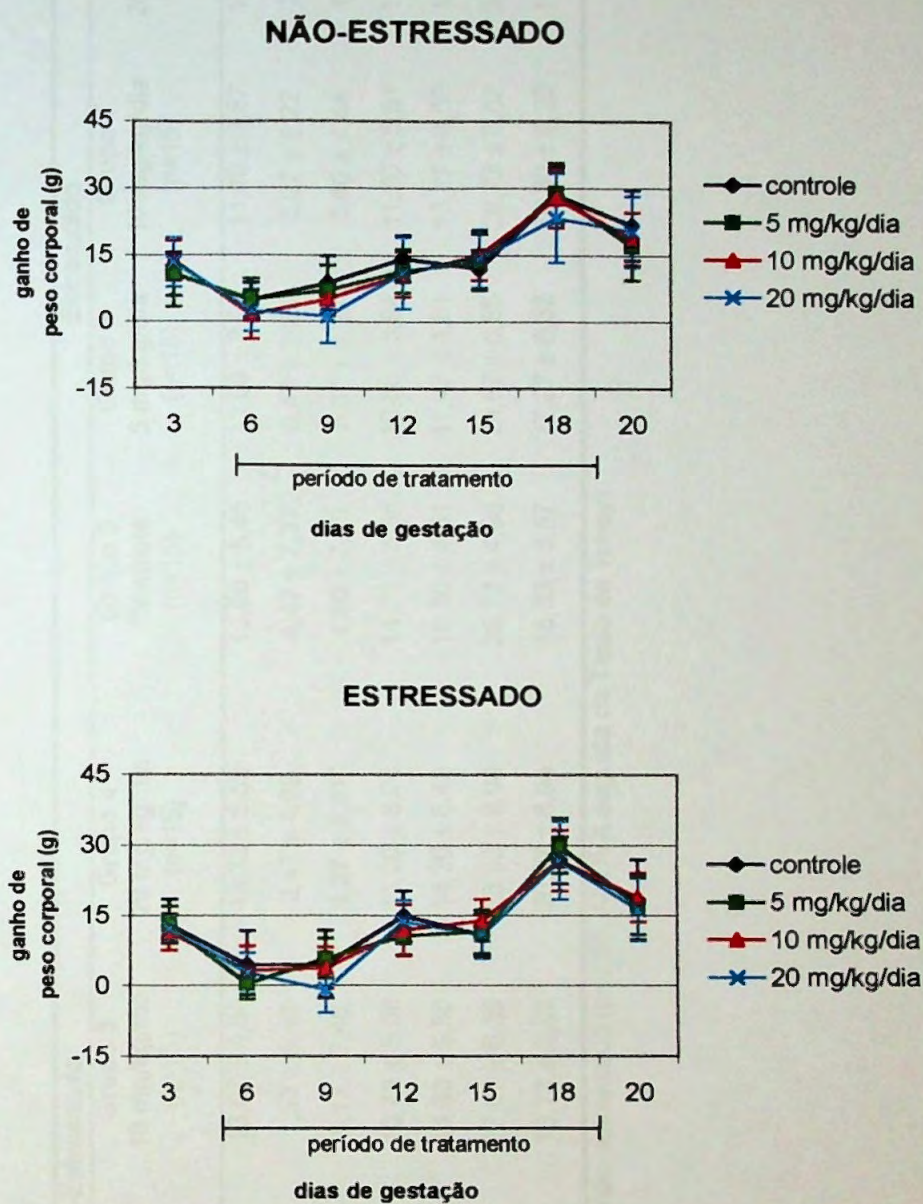


**Figura 2.** Peso corporal (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 2.** Peso corporal materno (gramas) de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de gestação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| 0                | 208,53 ± 18,51                | 209,20 ± 15,68                   | 207,93 ± 15,16                    | 206,73 ± 19,75                    | 208,53 ± 15,42                | 206,33 ± 9,51                    | 205,00 ± 11,65                    | 206,60 ± 16,46                    |
| 3                | 219,20 ± 19,19                | 219,93 ± 17,71                   | 221,60 ± 18,09                    | 220,07 ± 19,07                    | 221,53 ± 17,99                | 219,33 ± 10,89                   | 216,40 ± 11,84                    | 218,87 ± 15,95                    |
| 5                | 225,20 ± 20,35                | 226,73 ± 18,77                   | 226,27 ± 17,72                    | 225,33 ± 19,37                    | 231,53 ± 16,66                | 225,07 ± 9,95                    | 224,33 ± 13,44                    | 226,33 ± 16,26                    |
| 6                | 224,00 ± 21,28                | 224,87 ± 18,59                   | 223,13 ± 16,98                    | 222,53 ± 17,80                    | 226,00 ± 18,08                | 219,80 ± 10,33                   | 219,67 ± 14,01                    | 221,53 ± 14,92                    |
| 7                | 226,47 ± 20,82                | 227,40 ± 18,17                   | 226,60 ± 17,71                    | 221,67 ± 15,64                    | 227,53 ± 16,57                | 225,20 ± 13,88                   | 220,67 ± 13,27                    | 221,93 ± 15,18                    |
| 8                | 229,53 ± 19,77                | 230,53 ± 17,98                   | 227,27 ± 16,17                    | 220,73 ± 15,33                    | 229,60 ± 16,63                | 223,27 ± 7,27                    | 223,27 ± 13,42                    | 221,40 ± 14,75                    |
| 9                | 232,73 ± 18,78                | 231,93 ± 16,86                   | 228,27 ± 16,88                    | 223,80 ± 14,16                    | 230,60 ± 16,27                | 225,67 ± 8,65                    | 223,47 ± 11,75                    | 220,73 ± 13,98                    |
| 10               | 237,80 ± 19,84                | 236,60 ± 17,12                   | 232,33 ± 16,27                    | 226,20 ± 16,23                    | 236,20 ± 17,45                | 230,60 ± 8,31                    | 226,13 ± 11,43                    | 226,33 ± 13,26                    |
| 11               | 242,33 ± 21,88                | 240,07 ± 17,36                   | 236,07 ± 16,62                    | 231,47 ± 15,83                    | 240,67 ± 17,12                | 233,27 ± 8,63                    | 231,13 ± 12,44                    | 227,80 ± 14,04                    |
| 12               | 246,93 ± 20,94                | 243,40 ± 17,41                   | 239,00 ± 16,07                    | 234,80 ± 13,58                    | 245,33 ± 17,63                | 236,27 ± 6,73                    | 235,27 ± 14,04                    | 234,27 ± 14,67                    |
| 13               | 247,93 ± 20,37                | 247,07 ± 19,62                   | 242,67 ± 16,74                    | 235,73 ± 14,30                    | 247,13 ± 18,55                | 238,13 ± 8,14                    | 239,80 ± 11,83                    | 236,47 ± 14,47                    |
| 14               | 252,07 ± 19,85                | 251,67 ± 21,19                   | 247,93 ± 18,23                    | 244,07 ± 14,01                    | 251,13 ± 17,20                | 244,20 ± 8,03                    | 244,00 ± 13,21                    | 241,47 ± 13,58                    |
| 15               | 258,93 ± 21,03                | 256,93 ± 19,33                   | 253,93 ± 17,81                    | 249,00 ± 15,39                    | 256,13 ± 17,00                | 247,73 ± 8,54                    | 249,13 ± 13,36                    | 245,00 ± 14,34                    |
| 16               | 266,27 ± 20,06                | 264,73 ± 18,70                   | 260,73 ± 16,74                    | 256,00 ± 15,32                    | 261,27 ± 19,48                | 254,80 ± 9,86                    | 256,07 ± 13,49                    | 252,20 ± 14,31                    |
| 17               | 276,13 ± 22,34                | 275,60 ± 18,77                   | 271,40 ± 17,86                    | 261,93 ± 16,29                    | 271,60 ± 19,32                | 266,73 ± 11,79                   | 264,13 ± 13,69                    | 262,00 ± 14,04                    |
| 18               | 287,40 ± 22,00                | 285,93 ± 19,67                   | 281,60 ± 19,94                    | 272,33 ± 17,90                    | 282,87 ± 20,28                | 277,60 ± 11,70                   | 275,87 ± 13,81                    | 271,73 ± 15,74                    |
| 19               | 300,40 ± 24,96                | 296,87 ± 20,00                   | 291,27 ± 21,09                    | 279,93 ± 17,17 <sup>a</sup>       | 292,40 ± 21,01                | 287,73 ± 15,32                   | 287,07 ± 14,72                    | 281,13 ± 17,48                    |
| 20               | 309,13 ± 24,24                | 303,00 ± 21,06                   | 300,33 ± 19,07                    | 292,60 ± 20,64                    | 301,20 ± 23,82                | 294,87 ± 14,58                   | 294,67 ± 14,32                    | 288,00 ± 20,54                    |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, ANOVA seguida do Teste de Tukey).



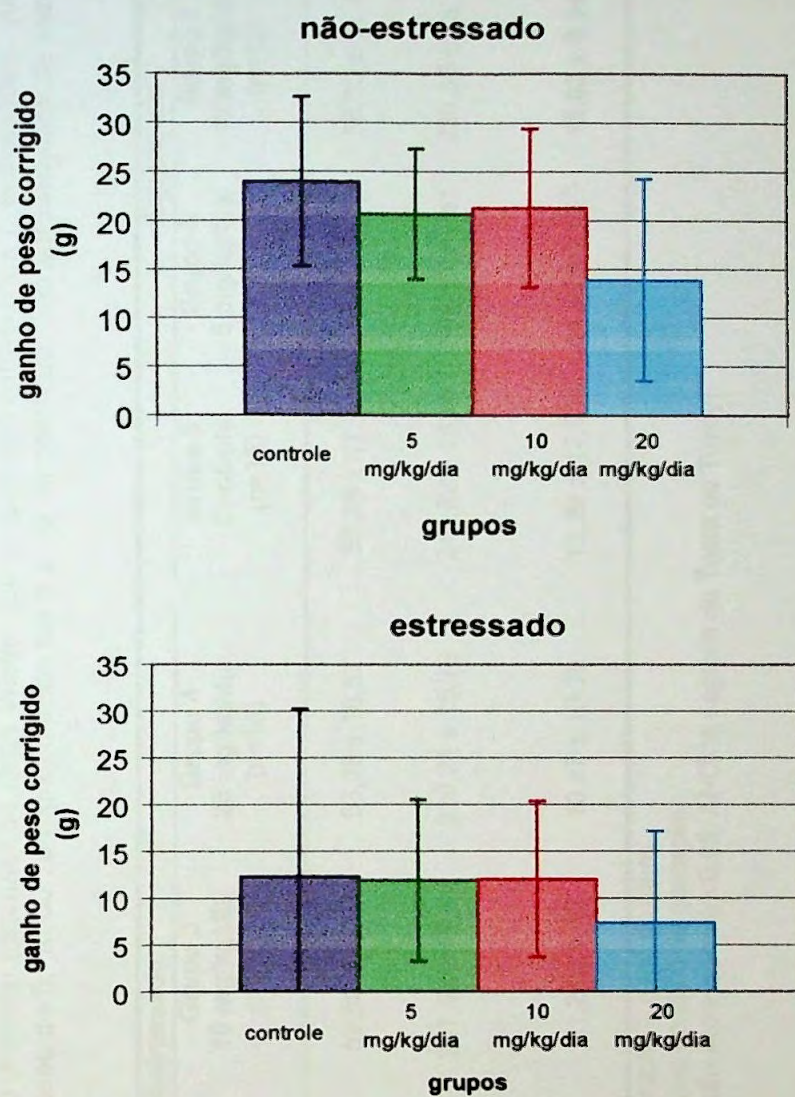
**Figura 3.** Ganho de peso corporal (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.



**Tabela 3.** Ganho de peso corporal materno (gramas) de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de gestação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| 0 - 3            | 10,67 ± 4,84                  | 10,73 ± 7,47                     | 13,67 ± 4,50                      | 13,33 ± 5,56                      | 13,00 ± 5,45                  | 13,00 ± 3,96                     | 11,40 ± 3,87                      | 12,27 ± 2,69                      |
| 3 - 6            | 4,80 ± 3,93                   | 4,93 ± 4,71                      | 1,53 ± 5,40                       | 2,47 ± 4,69                       | 4,47 ± 7,27                   | 0,47 ± 3,23                      | 3,27 ± 5,22                       | 2,67 ± 4,37                       |
| 6 - 9            | 8,73 ± 6,04                   | 7,07 ± 5,61                      | 5,13 ± 3,40                       | 1,27 ± 6,01 <sup>a</sup>          | 4,60 ± 7,19                   | 5,87 ± 4,26                      | 3,80 ± 4,44                       | -0,80 ± 4,96 <sup>a</sup>         |
| 9 - 12           | 14,20 ± 5,16                  | 11,47 ± 4,81                     | 10,73 ± 5,08                      | 11,00 ± 8,04                      | 14,73 ± 5,38                  | 10,60 ± 3,94                     | 11,80 ± 5,51                      | 13,53 ± 4,66                      |
| 12-15            | 12,00 ± 4,17                  | 13,53 ± 6,33                     | 14,93 ± 5,50                      | 14,20 ± 6,48                      | 10,80 ± 4,51                  | 11,47 ± 4,61                     | 13,87 ± 4,50                      | 10,73 ± 4,88                      |
| 15 - 18          | 28,47 ± 6,25                  | 29,00 ± 6,63                     | 27,67 ± 6,39                      | 23,33 ± 9,98                      | 26,73 ± 4,96                  | 29,87 ± 5,85                     | 26,73 ± 6,52                      | 26,73 ± 8,28                      |
| 18 - 20          | 21,73 ± 7,90                  | 17,07 ± 7,59                     | 18,73 ± 5,85                      | 20,27 ± 8,04                      | 18,33 ± 8,57                  | 17,27 ± 6,32                     | 18,80 ± 5,23                      | 16,27 ± 6,68                      |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do Teste de Tukey).



**Figura 4.** Ganho de peso corporal corrigido (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 4.** Ganho de peso corporal corrigido materno (gramas) de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|  | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|--|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| Peso útero                                 | 59,99 ± 9,22                  | 55,65 ± 10,15                    | 52,80 ± 13,17                     | 53,39 ± 16,57                     | 57,38 ± 17,73                 | 57,92 ± 13,58                    | 58,30 ± 11,41                     | 54,30 ± 8,35                      |
| Peso<br>carçaça <sup>1</sup>               | 249,15 ± 19,56                | 247,35 ± 19,87                   | 247,53 ± 17,44                    | 239,21 ± 15,76                    | 243,82 ± 15,16                | 236,95 ± 7,41                    | 236,36 ± 13,12                    | 233,70 ± 17,38                    |
| Ganho de<br>peso<br>corrigido <sup>2</sup> | 23,95 ± 8,71                  | 20,62 ± 6,67                     | 21,26 ± 8,15                      | 13,87 ± 10,38                     | 12,29 ± 17,90 <sup>a</sup>    | 11,88 ± 8,66 <sup>a</sup>        | 12,03 ± 8,34 <sup>a</sup>         | 7,37 ± 9,76 <sup>a</sup>          |

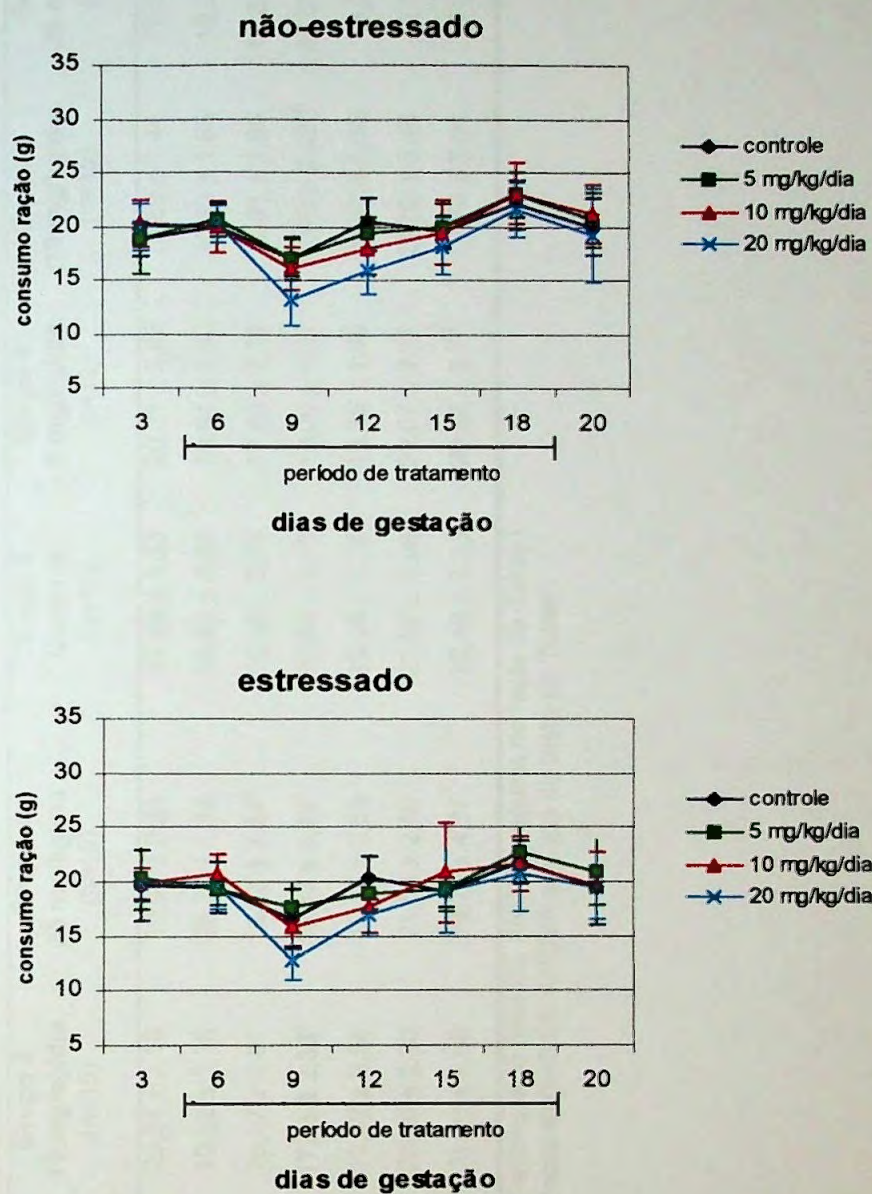
<sup>1</sup> Peso carçaça = peso corporal no dia 20 de gestação – peso do útero.

<sup>2</sup> Ganho de peso corrigido = peso da carçaça – peso no dia 5 de gestação.

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do Teste de Tukey).

#### **4.1.1.3 Consumo de Ração**

Os dados do consumo de ração (Tabela 5 e Figura 5) indicam não haver influência do estresse neste parâmetro. Porém, foi verificada diminuição no consumo de ração nos dias 9 e 12 de gestação nos grupos não-estressado e estressado tratados com a dose de 20 mg/kg/dia, e no dia 12 de gestação nos grupos não-estressado e estressado tratados com a dose de 10 mg/kg/dia, quando comparados com os grupos controle não-estressado e/ou estressado. Verificamos que o consumo de ração nos demais dias de tratamento foi similar ao dos grupos controle estressado e controle não-estressado, indicando recuperação dos animais.



**Figura 5.** Consumo de ração (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 5.** Consumo de ração materno (gramas/animal/dia) de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de gestação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| 3                | 18,73 ± 1,50                  | 18,87 ± 3,24                     | 20,24 ± 2,18                      | 19,91 ± 2,24                      | 19,69 ± 3,23                  | 20,31 ± 2,83                     | 19,80 ± 1,44                      | 19,87 ± 1,74                      |
| 6                | 19,84 ± 2,26                  | 20,60 ± 1,68                     | 19,82 ± 2,36                      | 20,24 ± 1,74                      | 19,40 ± 2,33                  | 19,31 ± 1,52                     | 20,69 ± 1,85                      | 19,62 ± 2,23                      |
| 9                | 17,00 ± 1,91                  | 17,09 ± 1,74                     | 16,07 ± 2,01                      | 13,22 ± 2,44 <sup>a</sup>         | 16,58 ± 2,74                  | 17,58 ± 2,19                     | 15,91 ± 1,96                      | 12,82 ± 1,80 <sup>ab</sup>        |
| 12               | 20,42 ± 2,25                  | 19,29 ± 1,51                     | 17,93 ± 2,33 <sup>a</sup>         | 15,87 ± 2,19 <sup>a</sup>         | 20,33 ± 1,98                  | 19,00 ± 1,54                     | 17,69 ± 2,42 <sup>ab</sup>        | 16,87 ± 2,01 <sup>ab</sup>        |
| 15               | 19,53 ± 1,49                  | 20,00 ± 2,06                     | 19,42 ± 2,96                      | 18,18 ± 2,59                      | 19,04 ± 1,36                  | 19,36 ± 1,99                     | 20,82 ± 4,60                      | 19,09 ± 3,77                      |
| 18               | 22,02 ± 2,26                  | 22,93 ± 2,14                     | 23,09 ± 2,80                      | 21,53 ± 2,50                      | 21,87 ± 1,98                  | 22,67 ± 2,15                     | 21,62 ± 2,46                      | 20,71 ± 3,40                      |
| 20               | 20,00 ± 2,56                  | 20,70 ± 2,53                     | 21,20 ± 2,68                      | 19,20 ± 4,37                      | 19,40 ± 3,33                  | 20,83 ± 2,91                     | 19,70 ± 3,06                      | 19,53 ± 2,95                      |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).

#### 4.1.1.4 Peso dos Órgãos

Os pesos absoluto e relativo (ao peso corporal) dos órgãos são apresentados na Tabela 6.

Foi observada redução significativa no peso absoluto do baço dos animais estressados e não-estressados tratados com a dose de 20 mg/kg/dia quando comparados com o grupo controle não-estressado. Este achado não pode ser considerado como um efeito adverso, pois não houve alterações no peso relativo deste órgão. Foi verificado, também, aumento no peso relativo do fígado dos animais estressados tratados com a dose de 20 mg/kg/dia em relação ao grupo controle estressado, sem apresentar diferenças quando comparado com os demais grupos experimentais, o que não nos permite atribuir a um efeito do tratamento e/ou do estresse.

Não foram observadas diferenças significativas nos pesos absoluto ou relativo dos animais dos demais grupos experimentais.

**Tabela 6.** Pesos absoluto e relativo (ao peso corporal) dos órgãos de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                         | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                         | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| Peso corporal (g)       | 302,86 ± 24,27                | 294,06 ± 31,49                   | 296,16 ± 18,81                    | 287,30 ± 19,16                    | 296,82 ± 24,06                | 293,85 ± 16,32                   | 292,07 ± 13,87                    | 283,49 ± 19,17                    |
| <b>Hipófise</b>         |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (mg)           | 9,47 ± 3,04                   | 11,00 ± 2,80                     | 9,33 ± 2,74                       | 10,60 ± 3,00                      | 10,00 ± 4,04                  | 8,87 ± 2,88                      | 10,80 ± 4,89                      | 9,73 ± 2,55                       |
| Relativo                | 3,11 ± 0,92                   | 3,77 ± 1,02                      | 3,16 ± 0,94                       | 3,73 ± 1,16                       | 3,33 ± 1,20                   | 3,02 ± 0,92                      | 3,69 ± 1,62                       | 3,45 ± 0,92                       |
| <b>Timo</b>             |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (g)            | 0,28 ± 0,04                   | 0,27 ± 0,03                      | 0,26 ± 0,04                       | 0,26 ± 0,07                       | 0,25 ± 0,05                   | 0,31 ± 0,07                      | 0,29 ± 0,05                       | 0,22 ± 0,06                       |
| Relativo                | 0,09 ± 0,02                   | 0,09 ± 0,01                      | 0,09 ± 0,01                       | 0,09 ± 0,03                       | 0,08 ± 0,02                   | 0,10 ± 0,02                      | 0,10 ± 0,02                       | 0,08 ± 0,02                       |
| <b>Rim direito</b>      |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (mg)           | 0,86 ± 0,09                   | 0,91 ± 0,12                      | 0,88 ± 0,10                       | 0,89 ± 0,10                       | 0,88 ± 0,11                   | 0,84 ± 0,06                      | 0,86 ± 0,08                       | 0,89 ± 0,10                       |
| Relativo                | 0,28 ± 0,02                   | 0,31 ± 0,04                      | 0,30 ± 0,03                       | 0,31 ± 0,04                       | 0,30 ± 0,04                   | 0,29 ± 0,02                      | 0,30 ± 0,03                       | 0,31 ± 0,03                       |
| <b>Rim esquerdo</b>     |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (mg)           | 0,85 ± 0,09                   | 0,85 ± 0,10                      | 0,84 ± 0,09                       | 0,82 ± 0,09                       | 0,82 ± 0,09                   | 0,80 ± 0,06                      | 0,82 ± 0,07                       | 0,85 ± 0,10                       |
| Relativo                | 0,28 ± 0,02                   | 0,29 ± 0,03                      | 0,28 ± 0,03                       | 0,29 ± 0,03                       | 0,28 ± 0,03                   | 0,27 ± 0,02                      | 0,28 ± 0,03                       | 0,30 ± 0,02                       |
| <b>Adrenal direita</b>  |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (mg)           | 42,80 ± 9,84                  | 43,67 ± 6,18                     | 43,73 ± 8,38                      | 42,93 ± 8,76                      | 44,93 ± 11,05                 | 45,60 ± 6,19                     | 44,73 ± 5,48                      | 45,33 ± 7,10                      |
| Relativo                | 14,20 ± 3,41                  | 14,99 ± 2,56                     | 14,74 ± 2,65                      | 15,09 ± 3,68                      | 15,10 ± 3,33                  | 15,56 ± 2,27                     | 15,38 ± 2,25                      | 16,04 ± 2,60                      |
| <b>Adrenal esquerda</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (mg)           | 45,33 ± 7,52                  | 45,80 ± 6,77                     | 45,73 ± 7,59                      | 47,20 ± 6,52                      | 47,27 ± 8,22                  | 45,33 ± 8,60                     | 44,20 ± 5,54                      | 48,27 ± 5,90                      |
| Relativo                | 15,10 ± 2,98                  | 15,73 ± 2,83                     | 15,44 ± 2,37                      | 16,50 ± 2,57                      | 15,93 ± 2,37                  | 15,50 ± 3,28                     | 15,18 ± 2,20                      | 17,08 ± 2,21                      |
| <b>Baço</b>             |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (g)            | 0,63 ± 0,09                   | 0,62 ± 0,10                      | 0,61 ± 0,07                       | <b>0,55 ± 0,05<sup>a</sup></b>    | 0,59 ± 0,07                   | 0,61 ± 0,08                      | 0,55 ± 0,06                       | <b>0,54 ± 0,06<sup>a</sup></b>    |
| Relativo                | 0,21 ± 0,02                   | 0,21 ± 0,04                      | 0,21 ± 0,02                       | 0,19 ± 0,02                       | 0,20 ± 0,02                   | 0,21 ± 0,03                      | 0,19 ± 0,02                       | 0,19 ± 0,02                       |
| <b>Fígado</b>           |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Absoluto (g)            | 13,96 ± 1,39                  | 14,15 ± 1,44                     | 14,19 ± 1,45                      | 13,97 ± 1,06                      | 13,28 ± 1,22                  | 13,45 ± 0,84                     | 13,58 ± 1,04                      | 13,61 ± 0,98                      |
| Relativo                | 4,62 ± 0,40                   | 4,86 ± 0,76                      | 4,79 ± 0,32                       | 4,87 ± 0,30                       | 4,48 ± 0,29                   | 4,58 ± 0,30                      | 4,65 ± 0,27                       | <b>4,81 ± 0,27<sup>b</sup></b>    |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).



#### **4.1.1.5 Performance Reprodutiva**

Os dados de performance reprodutiva materna são apresentados na Tabelas 7a e 7b. A análise estatística dos dados não revelou diferenças significativas entre os grupos estressados e não-estressados e entre os grupos tratados e controle.

**Tabela 7a.** Performance reprodutiva de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                         | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                         | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| <b>Nº fêmeas</b>        |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Com fetos viáveis       | 15                            | 15                               | 15                                | 15                                | 15                            | 15                               | 15                                | 15                                |
| Com reabsorção total    | 0                             | 0                                | 0                                 | 0                                 | 0                             | 0                                | 0                                 | 0                                 |
| <b>Nº corpos lúteos</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                   | 187                           | 175                              | 179                               | 169                               | 185                           | 183                              | 177                               | 174                               |
| Média ± D.P.            | 12,47 ± 1,36                  | 11,67 ± 1,45                     | 11,93 ± 1,44                      | 11,27 ± 2,25                      | 12,33 ± 1,54                  | 12,20 ± 1,47                     | 11,80 ± 1,74                      | 11,60 ± 1,84                      |
| <b>Nº implantações</b>  |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                   | 165                           | 151                              | 151                               | 151                               | 171                           | 162                              | 157                               | 156                               |
| Média ± D.P.            | 11,00 ± 1,69                  | 10,07 ± 1,98                     | 10,07 ± 1,98                      | 10,07 ± 3,51                      | 11,40 ± 2,44                  | 10,80 ± 2,76                     | 10,47 ± 2,33                      | 10,40 ± 1,55                      |
| <b>Nº reabsorções</b>   |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| <b>Precoce</b>          |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                   | 7                             | 8                                | 10                                | 4                                 | 14                            | 7                                | 3                                 | 7                                 |
| Média ± D.P.            | 0,47 ± 0,64                   | 0,53 ± 0,74                      | 0,67 ± 0,98                       | 0,27 ± 0,46                       | 0,93 ± 1,33                   | 0,47 ± 0,83                      | 0,20 ± 0,41                       | 0,47 ± 0,64                       |
| <b>Tardia</b>           |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                   | 0                             | 3                                | 3                                 | 1                                 | 2                             | 0                                | 0                                 | 0                                 |
| Média ± D.P.            | 0,00 ± 0,00                   | 0,20 ± 0,56                      | 0,20 ± 0,56                       | 0,07 ± 0,26                       | 0,13 ± 0,52                   | 0,00 ± 0,00                      | 0,00 ± 0,00                       | 0,00 ± 0,00                       |
| <b>Total</b>            |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                   | 7                             | 11                               | 13                                | 5                                 | 16                            | 7                                | 3                                 | 7                                 |
| Média ± D.P.            | 0,47 ± 0,64                   | 0,73 ± 1,16                      | 0,87 ± 0,99                       | 0,33 ± 0,49                       | 1,07 ± 1,44                   | 0,47 ± 0,83                      | 0,20 ± 0,41                       | 0,47 ± 0,64                       |

Não houve diferenças significativas entre os grupos (p>0,05, ANOVA).

**Tabela 7b.** Performance reprodutiva de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão. (continuação)

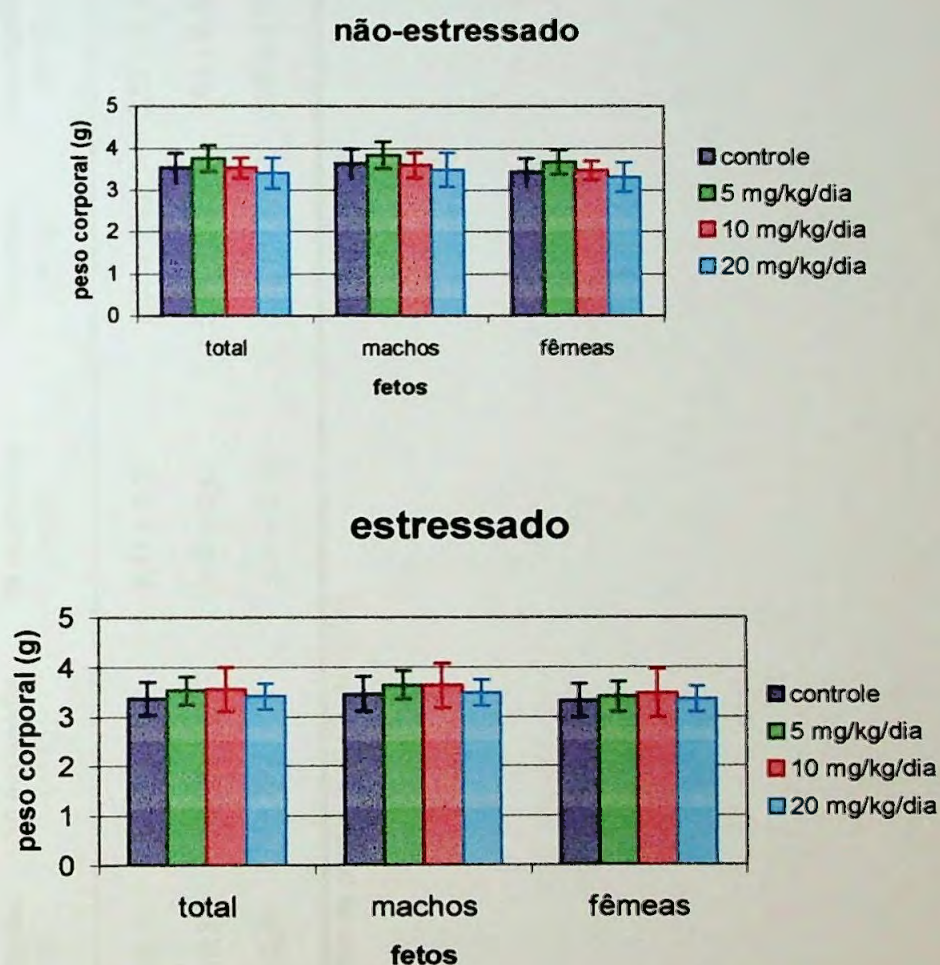
|                         | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                         | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| Nº fetos mortos         | 0                             | 0                                | 0                                 | 0                                 | 0                             | 0                                | 0                                 | 0                                 |
| Nº fetos viáveis        | 158                           | 140                              | 139                               | 146                               | 155                           | 153                              | 149                               | 149                               |
| Média ± D.P.            | 10,53 ± 1,73                  | 9,33 ± 2,02                      | 9,27 ± 2,09                       | 9,73 ± 3,39                       | 10,33 ± 3,29                  | 10,33 ± 2,66                     | 10,20 ± 2,34                      | 9,93 ± 1,62                       |
| Machos                  | 80                            | 74                               | 65                                | 85                                | 71                            | 80                               | 78                                | 76                                |
| Média ± D.P.            | 5,33 ± 1,80                   | 4,93 ± 1,58                      | 4,33 ± 1,99                       | 5,67 ± 2,50                       | 4,73 ± 1,98                   | 5,33 ± 1,76                      | 5,20 ± 2,24                       | 5,07 ± 1,91                       |
| Fêmeas                  | 78                            | 66                               | 74                                | 61                                | 84                            | 75                               | 75                                | 73                                |
| Média ± D.P.            | 5,20 ± 1,93                   | 4,40 ± 1,99                      | 4,93 ± 1,79                       | 4,07 ± 1,44                       | 5,60 ± 2,85                   | 5,00 ± 1,41                      | 5,00 ± 1,56                       | 4,87 ± 1,77                       |
| % Perda pré-implantação | 11,77 ± 9,03                  | 14,05 ± 10,49                    | 14,84 ± 17,20                     | 13,77 ± 19,80                     | 7,67 ± 16,57                  | 11,91 ± 17,74                    | 11,07 ± 16,67                     | 9,80 ± 9,00                       |
| % Perda pós-implantação | 4,16 ± 5,60                   | 7,09 ± 10,41                     | 8,11 ± 9,30                       | 3,06 ± 4,75                       | 11,43 ± 16,88                 | 4,03 ± 6,84                      | 2,49 ± 4,30                       | 4,43 ± 6,21                       |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA).

## 4.1.2 Avaliação Fetal

### 4.1.2.1 Peso Corporal dos Fetos

A análise dos dados revelou que não houve alterações no peso corporal dos fetos (Tabela 8 e Figura 6) dos grupos estressados e não-estressados, tratados com dicofol ou óleo de milho.



**Figura 6.** Peso corporal (gramas) de fetos de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

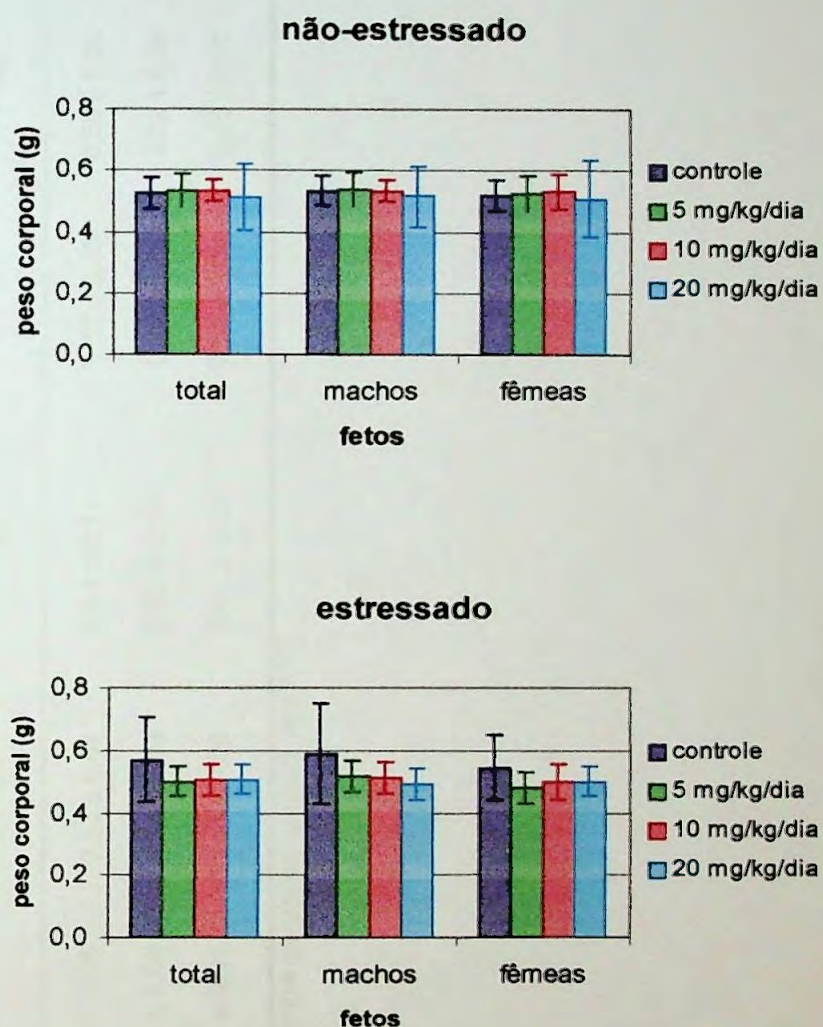
**Tabela 8.** Peso dos fetos (gramas) de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|        | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|--------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|        | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| Total  | 3,53 ± 0,34                   | 3,76 ± 0,31                      | 3,51 ± 0,27                       | 3,41 ± 0,37                       | 3,37 ± 0,33                   | 3,52 ± 0,28                      | 3,52 ± 0,43                       | 3,41 ± 0,27                       |
| Machos | 3,63 ± 0,35                   | 3,84 ± 0,32                      | 3,60 ± 0,30                       | 3,48 ± 0,41                       | 3,46 ± 0,35                   | 3,63 ± 0,28                      | 3,62 ± 0,45                       | 3,48 ± 0,27                       |
| Fêmeas | 3,43 ± 0,33                   | 3,67 ± 0,29                      | 3,47 ± 0,23                       | 3,31 ± 0,35                       | 3,32 ± 0,34                   | 3,40 ± 0,31                      | 3,47 ± 0,49                       | 3,34 ± 0,26                       |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA).

#### 4.1.2.2 Peso das Placentas

Os dados referentes ao peso das placentas dos fetos são apresentados na Tabela 9 e Figura 7. Não foram verificadas diferenças significativas no peso das placentas dos grupos estressados e não-estressados e nos grupos tratados ou não com dicofol.



**Figura 7.** Peso das placentas (gramas) de ratas dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 9.** Peso das placentas (gramas) de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|        | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|--------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|        | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| Total  | 0,52 ± 0,05                   | 0,53 ± 0,06                      | 0,53 ± 0,04                       | 0,51 ± 0,11                       | 0,52 ± 0,05                   | 0,50 ± 0,05                      | 0,50 ± 0,05                       | 0,51 ± 0,05                       |
| Machos | 0,53 ± 0,05                   | 0,54 ± 0,06                      | 0,53 ± 0,03                       | 0,52 ± 0,10                       | 0,53 ± 0,05                   | 0,52 ± 0,05                      | 0,51 ± 0,05                       | 0,49 ± 0,05                       |
| Fêmeas | 0,52 ± 0,05                   | 0,52 ± 0,06                      | 0,53 ± 0,06                       | 0,51 ± 0,12                       | 0,51 ± 0,06                   | 0,48 ± 0,05                      | 0,50 ± 0,06                       | 0,50 ± 0,05                       |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA).

#### **4.1.2.3 Avaliação Externa dos Fetos**

A análise externa dos fetos (Tabela 10) não revelou malformações e/ou variações nos diferentes grupos experimentais, indicando que o tratamento com o dicofol e o estresse não resultaram em alterações externas nos fetos.



**Tabela 10.** Avaliação externa de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação.

|                              | Não-Estressado |             |              |              | Estressado |             |              |              |
|------------------------------|----------------|-------------|--------------|--------------|------------|-------------|--------------|--------------|
|                              | Grupo 1        | Grupo 2     | Grupo 3      | Grupo 4      | Grupo 5    | Grupo 6     | Grupo 7      | Grupo 8      |
|                              | Controle       | 5 mg/kg/dia | 10 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia | Controle   | 5 mg/kg/dia | 10 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados              | 158            | 140         | 139          | 146          | 155        | 155         | 153          | 149          |
| Ninhadas Avaliadas           | 15             | 15          | 15           | 15           | 15         | 15          | 15           | 15           |
| <b>Total de malformações</b> |                |             |              |              |            |             |              |              |
| Fetos afetados               | 0 / 158        | 0 / 140     | 0 / 139      | 0 / 146      | 0 / 155    | 0 / 155     | 0 / 153      | 0 / 149      |
| %                            | 0,0            | 0,0         | 0,0          | 0,0          | 0,0        | 0,0         | 0,0          | 0,0          |
| Ninhadas afetadas            | 0 / 15         | 0 / 15      | 0 / 15       | 0 / 15       | 0 / 15     | 0 / 15      | 0 / 15       | 0 / 15       |
| %                            | 0,0            | 0,0         | 0,0          | 0,0          | 0,0        | 0,0         | 0,0          | 0,0          |
| <b>Total de variações</b>    |                |             |              |              |            |             |              |              |
| Fetos afetados               | 0 / 158        | 0 / 140     | 0 / 139      | 0 / 146      | 0 / 155    | 0 / 155     | 0 / 153      | 0 / 149      |
| %                            | 0,0            | 0,0         | 0,0          | 0,0          | 0,0        | 0,0         | 0,0          | 0,0          |
| Ninhadas afetadas            | 0 / 15         | 0 / 15      | 0 / 15       | 0 / 15       | 0 / 15     | 0 / 15      | 0 / 15       | 0 / 15       |
| %                            | 0,0            | 0,0         | 0,0          | 0,0          | 0,0        | 0,0         | 0,0          | 0,0          |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

#### 4.1.2.4 Avaliação Visceral dos Fetos

Os achados da análise visceral dos fetos são apresentados nas Tabelas 11a, 11b e 11c. Não foram observadas malformações viscerais nos diferentes grupos experimentais.

Variações como rim congesto e ectópico, ureter sinuoso e testículo ectópico foram observados nos fetos dos diferentes grupos experimentais sem diferenças significativas entre os grupos. A incidência de fetos afetados por variações (total) e por ureter dilatado foi significativamente aumentada nos grupos estressados tratados com a dose de 20 mg/kg/dia quando comparados, respectivamente, com o grupo controle estressado e com o grupo controle não-estressado. Não podemos atribuir a incidência desses achados como adversos, pois não foi verificado aumento na incidência de ninhadas afetadas.

A incidência de fetos e ninhadas afetadas por hidronefrose foi significativamente aumentada no grupo estressado tratado com a dose de 20 mg/kg/dia (32,4% de fetos afetados e 80,0% das ninhadas afetadas) quando comparado com o grupo controle estressado (15,0% de fetos afetados e 46,7% de ninhadas afetadas) e com o grupo não-estressado tratado com a dose de 20 mg/kg/dia (9,9% de fetos afetados e 33,3% de ninhadas afetadas). Não podemos atribuir como efeito adverso do tratamento pois a distribuição desta variação entre os grupos experimentais não apresentou relação dose-resposta.

A incidência de fetos afetados por cavidade nasal alargada foi significativamente aumentada nos grupos não-estressados tratados com dicofol nas doses de 20 (15,5% de fetos afetados), 10 (16,7% de fetos afetados) e 5 mg/kg/dia (16,7% de fetos afetados) quando comparados com o grupo controle não-estressado (5,4% dos fetos afetados). Não foi verificado aumento no número de ninhadas afetadas por estas alterações e não podemos desta forma atribuir a um efeito advesos do tratamento.

**Tabela 11a.** Avaliação visceral de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação.

|                              | Estressado          |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
|------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                              | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado          |                        |                         |                         |
|                              | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados              | 74                  | 66                     | 66                      | 71                      | 73                  | 76                     | 72                      | 71                      |
| Ninhadas Avaliadas           | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Total de malformações</b> |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 0 / 74              | 0 / 66                 | 0 / 66                  | 0 / 71                  | 0 / 73              | 0 / 76                 | 0 / 72                  | 0 / 71                  |
| %                            | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     |
| Ninhadas afetadas            | 0 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 0 / 15                  | 0 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 0 / 15                  |
| %                            | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     |
| <b>Total de variações</b>    |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 30 / 74             | 33 / 66                | 30 / 66                 | 21 / 71                 | 26 / 73             | 28 / 76                | 31 / 72                 | 35 / 71 <sup>b</sup>    |
| %                            | 40,5                | 50,0                   | 45,5                    | 29,6                    | 35,6                | 36,8                   | 43,1                    | 49,3                    |
| Ninhadas afetadas            | 11 / 15             | 14 / 15                | 13 / 15                 | 12 / 15                 | 13 / 15             | 11 / 15                | 13 / 15                 | 13 / 15                 |
| %                            | 73,3                | 93,3                   | 86,7                    | 80,0                    | 86,7                | 73,3                   | 86,7                    | 86,7                    |
| <b>Hidronefroze</b>          |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 16 / 74             | 15 / 66                | 17 / 66                 | 7 / 71                  | 11 / 73             | 14 / 76                | 10 / 72                 | 23 / 71 <sup>bc</sup>   |
| %                            | 21,6                | 22,7                   | 25,8                    | 9,9                     | 15,0                | 18,4                   | 13,9                    | 32,4                    |
| Ninhadas afetadas            | 7 / 15              | 10 / 15                | 10 / 15                 | 5 / 15                  | 7 / 15              | 8 / 15                 | 8 / 15                  | 12 / 15 <sup>c</sup>    |
| %                            | 46,7                | 66,7                   | 66,7                    | 33,3                    | 46,7                | 53,3                   | 53,3                    | 80,0                    |
| <b>Rim congesto</b>          |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 4 / 74              | 0 / 66                 | 0 / 66                  | 0 / 71                  | 2 / 73              | 0 / 76                 | 0 / 72                  | 1 / 71                  |
| %                            | 5,4                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     | 2,7                 | 0,0                    | 0,0                     | 1,4                     |
| Ninhadas afetadas            | 1 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 0 / 15                  | 2 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 1 / 15                  |
| %                            | 6,7                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     | 13,3                | 0,0                    | 0,0                     | 6,7                     |

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

<sup>c</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p < 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

<sup>d</sup> Significativamente diferente do grupo 20 mg/kg/dia não-estressado ( $p < 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

**Tabela 11b.** Avaliação visceral de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação)

|                        | Estressado          |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
|------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                        | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado          |                        |                         |                         |
|                        | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados        | 74                  | 66                     | 66                      | 71                      | 73                  | 76                     | 72                      | 71                      |
| Ninhadas Avaliadas     | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Rim ectópico</b>    |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados         | 0 / 74              | 0 / 66                 | 0 / 66                  | 0 / 71                  | 0 / 73              | 0 / 76                 | 0 / 72                  | 1 / 71                  |
| %                      | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 1,4                     |
| Ninhadas afetadas      | 0 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 0 / 15                  | 0 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 1 / 15                  |
| %                      | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 0,0                     | 0,0                 | 0,0                    | 0,0                     | 6,7                     |
| <b>Ureter dilatado</b> |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados         | 25 / 74             | 22 / 66                | 22 / 66                 | 11 / 71                 | 20 / 73             | 20 / 76                | 20 / 72                 | 29 / 71 <sup>a</sup>    |
| %                      | 33,8                | 33,3                   | 33,3                    | 15,5                    | 27,4                | 26,3                   | 27,8                    | 40,8                    |
| Ninhadas afetadas      | 10 / 15             | 12 / 15                | 11 / 15                 | 8 / 15                  | 11 / 15             | 8 / 15                 | 10 / 15                 | 11 / 15                 |
| %                      | 66,7                | 80,0                   | 73,3                    | 53,3                    | 73,3                | 53,3                   | 66,7                    | 73,3                    |
| <b>Ureter sinuoso</b>  |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados         | 7 / 74              | 10 / 66                | 5 / 66                  | 3 / 71                  | 8 / 73              | 4 / 76                 | 6 / 72                  | 9 / 71                  |
| %                      | 9,5                 | 15,2                   | 7,6                     | 4,2                     | 11,0                | 5,3                    | 8,3                     | 12,7                    |
| Ninhadas afetadas      | 6 / 15              | 5 / 15                 | 4 / 15                  | 2 / 15                  | 5 / 15              | 2 / 15                 | 4 / 15                  | 7 / 15                  |
| %                      | 40,0                | 33,3                   | 26,7                    | 13,3                    | 33,3                | 13,3                   | 26,7                    | 46,7                    |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo 20 mg/kg/dia não-estressado ( $p < 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

**Tabela 11c.** Avaliação visceral de fetos de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação)

|                                 | Estressado          |                              |                              |                              |                     |                        |                         |                         |
|---------------------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                 | Não-Estressado      |                              |                              |                              | Estressado          |                        |                         |                         |
|                                 | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia       | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia      | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia      | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados                 | 74                  | 66                           | 66                           | 71                           | 73                  | 76                     | 72                      | 71                      |
| Ninhadas Avaliadas              | 15                  | 15                           | 15                           | 15                           | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Cavidade nasal aumentada</b> |                     |                              |                              |                              |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados %                | 4 / 74<br>5,4       | 11 / 66 <sup>a</sup><br>16,7 | 11 / 66 <sup>a</sup><br>16,7 | 11 / 71 <sup>a</sup><br>15,5 | 4 / 73<br>5,4       | 11 / 76<br>14,5        | 10 / 72<br>13,9         | 8 / 71<br>11,3          |
| Ninhadas afetadas %             | 3 / 15<br>20,0      | 6 / 15<br>40,0               | 4 / 15<br>26,7               | 7 / 15<br>46,7               | 2 / 15<br>13,3      | 7 / 15<br>46,7         | 6 / 15<br>40,0          | 5 / 15<br>33,3          |
| <b>Testículo ectópico</b>       |                     |                              |                              |                              |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados %                | 0 / 74<br>0,0       | 0 / 66<br>0,0                | 0 / 66<br>0,0                | 0 / 71<br>0,0                | 1 / 73<br>1,4       | 0 / 76<br>0,0          | 1 / 72<br>1,4           | 0 / 71<br>0,0           |
| Ninhadas afetadas %             | 0 / 15<br>0,0       | 0 / 15<br>0,0                | 0 / 15<br>0,0                | 0 / 15<br>0,0                | 1 / 15<br>6,7       | 0 / 15<br>0,0          | 1 / 15<br>6,7           | 0 / 15<br>0,0           |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, Teste Exato de Fisher).

#### 4.1.2.5 Avaliação Esquelética dos Fetos

Os achados esqueléticos são apresentados nas Tabelas 12a a 12f.

As malformações observadas foram relacionadas ao esternébrio (bipartido) e à vértebra torácica (corpo vertebral bipartido) que ocorreram sem diferenças significativas entre os diferentes grupos experimentais.

A incidência de fetos afetados por variações foi significativamente aumentada nos fetos dos grupos estressado e não-estressado tratados com a dose de 20 mg/kg/dia (respectivamente, 57,7% e 48,0% dos fetos afetados) em relação aos grupos controle não-estressado e estressado (respectivamente, 25,0% e 32,1% dos fetos afetados). Foi verificado também, aumento na incidência de fetos (52,8%) e ninhadas (100,0%) afetadas por variações no grupo não-estressado tratado com a dose de 10 mg/kg/dia, quando comparado com o grupo controle não-estressado. Como a incidência de ninhadas afetadas foi significativamente aumentada apenas no grupo não-estressado tratado com a dose de 10 mg/kg/dia, não podemos concluir que o tratamento associado ao estresse resultou em aumento de variações.

A incidência de costela ondulada e extranumerária rudimentar foi significativamente aumentada no grupo não-estressado tratado com a dose de 10 mg/kg/dia quando comparado ao grupo não-estressado controle. Esse achado não apresentou relação dose-resposta e é considerado sem relevância biológica.

A incidência de fetos afetados por costela extranumerária rudimentar (51,3% de fetos afetados) foi também significativamente aumentada no grupo estressado tratado com a dose de 20 mg/kg/dia quando comparado aos grupos controle estressado e não-estressado (27,2% e 22,6% de fetos afetados, respectivamente) e ao grupo não-estressado tratado com 20 mg/kg/dia (33,3% de fetos afetados). Não foi observada diferença significativa na incidência de ninhadas afetadas por costela extranumerária rudimentar em relação aos demais grupos experimentais, o que não nos permite atribuir este achado ao tratamento e ao estresse.

As incidências de vértebra torácica com corpo vertebral em forma de "halteres" e de costela extranumerária completa foram similares entre os grupos experimentais.

Retardos foram encontrados em todos os grupos experimentais sem diferenças entre os grupos. As incidências significativas encontradas (esternébrios não-ossificados e rudimentares) ocorreram sem relação dose-resposta e são considerados achados espontâneos. A incidência de ossificação incompleta do osso interparietal foi aumentada nos fetos dos grupos estressados tratados com dicofol ou óleo de milho (controle) e nos fetos dos grupos não-estressados tratados com as doses de 20 ou 10 mg/kg/dia, quando comparados ao grupo controle não-estressado. Entretanto, não foram verificadas diferenças na incidência de ninhadas afetadas, o que não nos permite atribuir esse retardo ao tratamento e/ou ao estresse.

**Tabela 12a.** Avaliação esquelética (malformações) de fetos de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação.

|                              | Estressado          |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
|------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                              | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado          |                        |                         |                         |
|                              | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados              | 84                  | 74                     | 72                      | 75                      | 81                  | 78                     | 80                      | 78                      |
| Ninhadas Avaliadas           | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Total de malformações</b> |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 2 / 84              | 2 / 74                 | 1 / 72                  | 3 / 75                  | 3 / 81              | 1 / 78                 | 1 / 80                  | 3 / 78                  |
| %                            | 2,4                 | 2,7                    | 1,4                     | 4,0                     | 3,7                 | 1,3                    | 1,3                     | 3,8                     |
| Ninhadas afetadas            | 1 / 15              | 2 / 15                 | 1 / 15                  | 3 / 15                  | 2 / 15              | 1 / 15                 | 1 / 15                  | 3 / 15                  |
| %                            | 6,7                 | 13,3                   | 6,7                     | 20,0                    | 13,3                | 6,7                    | 6,7                     | 20,0                    |
| <b>Esternébrio</b>           |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| <i>bipartido</i>             |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 2 / 84              | 1 / 74                 | 1 / 72                  | 1 / 75                  | 1 / 81              | 1 / 78                 | 1 / 80                  | 2 / 78                  |
| %                            | 2,4                 | 1,4                    | 1,4                     | 1,3                     | 1,3                 | 1,3                    | 1,3                     | 2,6                     |
| Ninhadas afetadas            | 1 / 15              | 1 / 15                 | 1 / 15                  | 1 / 15                  | 1 / 15              | 1 / 15                 | 1 / 15                  | 2 / 15                  |
| %                            | 6,7                 | 6,7                    | 6,7                     | 6,7                     | 6,7                 | 6,7                    | 6,7                     | 13,3                    |
| <b>Vértebra torácica</b>     |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| <i>Corpo bipartido</i>       |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados               | 0 / 84              | 1 / 74                 | 0 / 72                  | 2 / 75                  | 3 / 81              | 0 / 78                 | 0 / 78                  | 1 / 78                  |
| %                            | 0,0                 | 1,4                    | 0,0                     | 2,7                     | 3,7                 | 0,0                    | 0,0                     | 1,3                     |
| Ninhadas afetadas            | 0 / 15              | 1 / 15                 | 0 / 15                  | 2 / 15                  | 2 / 15              | 0 / 15                 | 0 / 15                  | 1 / 15                  |
| %                            | 0,0                 | 6,7                    | 0,0                     | 13,3                    | 13,3                | 0,0                    | 0,0                     | 6,7                     |

Não houve diferenças entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).



**Table 12b.** Avaliação esquelética (variações) de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação.

|                                  | Não-Estressado |             |                      |                      |              |              |              |                        | Estressado |             |              |              |                        |              |              |              |         |
|----------------------------------|----------------|-------------|----------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|------------------------|------------|-------------|--------------|--------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|---------|
|                                  | Grupo 1        |             | Grupo 2              |                      | Grupo 3      |              | Grupo 4      |                        | Grupo 5    |             | Grupo 6      |              | Grupo 7                |              | Grupo 8      |              |         |
|                                  | Controle       | 5 mg/kg/dia | 10 mg/kg/dia         | 20 mg/kg/dia         | 10 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia | 10 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia           | Controle   | 5 mg/kg/dia | 10 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia | 5 mg/kg/dia            | 10 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia | 20 mg/kg/dia |         |
| Fetos Avaliados                  | 84             | 74          | 72                   | 75                   | 81           | 78           | 80           | 81                     | 78         | 80          | 78           | 80           | 78                     | 80           | 78           | 78           |         |
| Ninhadas Avaliadas               | 15             | 15          | 15                   | 15                   | 15           | 15           | 15           | 15                     | 15         | 15          | 15           | 15           | 15                     | 15           | 15           | 15           |         |
| <b>Total de variações</b>        |                |             |                      |                      |              |              |              |                        |            |             |              |              |                        |              |              |              |         |
| Fetos afetados                   | 21 / 84        | 22 / 74     | 38 / 72 <sup>a</sup> | 36 / 75 <sup>a</sup> | 26 / 81      | 32 / 78      | 38 / 80      | 45 / 78 <sup>ab</sup>  | 32 / 81    | 41,0        | 38 / 80      | 47,5         | 45 / 78 <sup>ab</sup>  | 57,7         |              |              |         |
| %                                | 25,0           | 29,7        | 52,8                 | 48,0                 | 32,1         | 41,0         | 47,5         | 57,7                   | 32,1       | 41,0        | 47,5         | 57,7         | 57,7                   |              |              |              |         |
| Ninhadas afetadas                | 9 / 15         | 10 / 15     | 15 / 15 <sup>a</sup> | 13 / 15              | 12 / 15      | 12 / 15      | 13 / 15      | 14 / 15                | 12 / 15    | 12 / 15     | 13 / 15      | 13 / 15      | 14 / 15                | 14 / 15      | 14 / 15      | 14 / 15      | 14 / 15 |
| %                                | 60,0           | 66,7        | 100,0                | 86,7                 | 80,0         | 80,0         | 86,7         | 93,3                   | 80,0       | 80,0        | 86,7         | 86,7         | 93,3                   | 93,3         | 93,3         | 93,3         | 93,3    |
| <b>Costela</b>                   |                |             |                      |                      |              |              |              |                        |            |             |              |              |                        |              |              |              |         |
| <i>Ondulada</i>                  |                |             |                      |                      |              |              |              |                        |            |             |              |              |                        |              |              |              |         |
| Fetos afetados                   | 1 / 84         | 4 / 74      | 10 / 72 <sup>a</sup> | 4 / 75               | 3 / 81       | 3 / 78       | 6 / 80       | 3 / 78                 | 3 / 81     | 3 / 8       | 6 / 80       | 7,5          | 3 / 78                 | 3,8          | 3 / 78       | 3,8          | 3 / 78  |
| %                                | 1,2            | 5,4         | 13,9                 | 5,3                  | 3,7          | 3,8          | 7,5          | 3,8                    | 3,7        | 3,7         | 7,5          | 9,4          | 3,8                    | 3,8          | 3,8          | 3,8          | 3,8     |
| Ninhadas afetadas                | 1 / 15         | 3 / 15      | 8 / 15 <sup>a</sup>  | 3 / 15               | 2 / 15       | 2 / 15       | 3 / 15       | 3 / 15                 | 2 / 15     | 2 / 15      | 4 / 15       | 4 / 15       | 2 / 15                 | 2 / 15       | 3 / 15       | 3 / 15       | 3 / 15  |
| %                                | 6,6            | 20,0        | 53,3                 | 20,0                 | 13,3         | 13,3         | 20,0         | 20,0                   | 13,3       | 13,3        | 26,7         | 26,7         | 13,3                   | 13,3         | 20,0         | 20,0         | 20,0    |
| <i>Extranumerária rudimentar</i> |                |             |                      |                      |              |              |              |                        |            |             |              |              |                        |              |              |              |         |
| Fetos afetados                   | 19 / 84        | 17 / 74     | 30 / 72 <sup>a</sup> | 25 / 75              | 22 / 81      | 26 / 78      | 31 / 80      | 40 / 78 <sup>abc</sup> | 22 / 81    | 27,2        | 31 / 80      | 38,7         | 40 / 78 <sup>abc</sup> | 51,3         |              |              |         |
| %                                | 22,6           | 22,9        | 41,6                 | 33,3                 | 27,2         | 33,3         | 38,7         | 51,3                   | 27,2       | 33,3        | 38,7         | 51,3         | 51,3                   |              |              |              |         |
| Ninhadas afetadas                | 7 / 15         | 8 / 15      | 12 / 15              | 9 / 15               | 10 / 15      | 10 / 15      | 12 / 15      | 12 / 15                | 10 / 15    | 10 / 15     | 12 / 15      | 12 / 15      | 12 / 15                | 12 / 15      | 12 / 15      | 12 / 15      | 12 / 15 |
| %                                | 46,6           | 53,3        | 80,0                 | 60,0                 | 66,7         | 66,7         | 80,0         | 80,0                   | 66,7       | 66,7        | 80,0         | 80,0         | 80,0                   | 80,0         | 80,0         | 80,0         | 80,0    |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

<sup>c</sup> Significativamente diferente do grupo 20 mg/kg/dia não-estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

**Tabela 12c.** Avaliação esquelética (variações) de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação)

|                               | Não-Estressado |                |                |               |               |                |                |                | Estressado     |               |                |               |                |                |                |                |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                               | Grupo 1        |                | Grupo 2        |               | Grupo 3       |                | Grupo 4        |                | Grupo 5        |               | Grupo 6        |               | Grupo 7        |                | Grupo 8        |                |
|                               | Controle       | 5 mg/kg/dia    | 5 mg/kg/dia    | 10 mg/kg/dia  | 10 mg/kg/dia  | 20 mg/kg/dia   | 20 mg/kg/dia   | 20 mg/kg/dia   | Controle       | 5 mg/kg/dia   | 5 mg/kg/dia    | 10 mg/kg/dia  | 10 mg/kg/dia   | 10 mg/kg/dia   | 20 mg/kg/dia   | 20 mg/kg/dia   |
| Fetos Avaliados               | 84             | 74             | 74             | 72            | 72            | 75             | 75             | 81             | 78             | 80            | 78             | 80            | 78             | 78             | 78             | 78             |
| Ninhadas Avaliadas            | 15             | 15             | 15             | 15            | 15            | 15             | 15             | 15             | 15             | 15            | 15             | 15            | 15             | 15             | 15             | 15             |
| <b>Costela extranumerária</b> |                |                |                |               |               |                |                |                |                |               |                |               |                |                |                |                |
| Completa                      |                |                |                |               |               |                |                |                |                |               |                |               |                |                |                |                |
| Fetos afetados %              | 0 / 84<br>0,0  | 1 / 74<br>1,4  | 1 / 74<br>1,4  | 1 / 72<br>1,4 | 1 / 72<br>1,4 | 2 / 75<br>2,7  | 2 / 75<br>2,7  | 0 / 81<br>0,0  | 1 / 78<br>1,30 | 0 / 80<br>0,0 | 1 / 78<br>1,30 | 0 / 80<br>0,0 | 2 / 78<br>2,6  | 2 / 78<br>2,6  | 2 / 78<br>2,6  | 2 / 78<br>2,6  |
| Ninhadas afetadas %           | 0 / 15<br>0,0  | 1 / 15<br>6,7  | 1 / 15<br>6,7  | 1 / 15<br>6,7 | 1 / 15<br>6,7 | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 | 0 / 15<br>0,0  | 1 / 15<br>6,7  | 0 / 15<br>0,0 | 1 / 15<br>6,7  | 0 / 15<br>0,0 | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 |
| <b>Vértebra torácica</b>      |                |                |                |               |               |                |                |                |                |               |                |               |                |                |                |                |
| em forma de "halteres"        |                |                |                |               |               |                |                |                |                |               |                |               |                |                |                |                |
| Fetos afetados %              | 0 / 84<br>0,0  | 2 / 74<br>2,7  | 2 / 74<br>2,7  | 1 / 72<br>1,4 | 1 / 72<br>1,4 | 0 / 75<br>0,0  | 0 / 75<br>0,0  | 2 / 81<br>2,5  | 2 / 78<br>2,6  | 3 / 80<br>3,8 | 2 / 78<br>2,6  | 3 / 80<br>3,8 | 2 / 78<br>2,6  | 2 / 78<br>2,6  | 2 / 78<br>2,6  | 2 / 78<br>2,6  |
| Ninhadas afetadas %           | 0 / 15<br>0,0  | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 | 1 / 15<br>6,7 | 1 / 15<br>6,7 | 0 / 15<br>0,0  | 0 / 15<br>0,0  | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 | 1 / 15<br>6,7 | 2 / 15<br>13,3 | 1 / 15<br>6,7 | 3 / 15<br>20,0 | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 | 2 / 15<br>13,3 |

Não houve diferenças entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

**Tabela 12d.** Avaliação esquelética (retardos) de fetos de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação.

|                               | Estressado          |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
|-------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                               | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado          |                        |                         |                         |
|                               | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados               | 84                  | 74                     | 72                      | 75                      | 81                  | 78                     | 80                      | 78                      |
| Ninhadas Avaliadas            | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Total de retardos</b>      |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 84 / 84             | 74 / 74                | 72 / 72                 | 75 / 75                 | 81 / 81             | 78 / 78                | 80 / 80                 | 78 / 78                 |
| %                             | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   |
| Ninhadas afetadas             | 15 / 15             | 15 / 15                | 15 / 15                 | 15 / 15                 | 15 / 15             | 15 / 15                | 15 / 15                 | 15 / 15                 |
| %                             | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   |
| <b>Esternébrio</b>            |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| <i>Não-ossificado</i>         |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 29 / 84             | 17 / 74                | 22 / 72                 | 25 / 75                 | 38 / 81             | 33 / 78                | 31 / 80                 | 35 / 78                 |
| %                             | 34,5                | 23,0                   | 30,6                    | 33,3                    | 46,9                | 42,3                   | 38,8                    | 44,9                    |
| Ninhadas afetadas             | 11 / 15             | 8 / 15                 | 9 / 15                  | 12 / 15                 | 13 / 15             | 12 / 15                | 9 / 15                  | 11 / 15                 |
| %                             | 73,3                | 53,3                   | 60,0                    | 80,0                    | 86,7                | 80,0                   | 60,0                    | 73,3                    |
| <i>Ossificação incompleta</i> |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 7 / 84              | 6 / 74                 | 10 / 72                 | 9 / 75                  | 9 / 81              | 7 / 78                 | 19 / 80 <sup>a</sup>    | 10 / 78                 |
| %                             | 8,3                 | 8,1                    | 13,9                    | 12,0                    | 11,1                | 9,0                    | 23,8                    | 12,8                    |
| Ninhadas afetadas             | 5 / 15              | 3 / 15                 | 5 / 15                  | 6 / 15                  | 7 / 15              | 6 / 15                 | 9 / 15                  | 5 / 15                  |
| %                             | 33,3                | 20,0                   | 33,3                    | 40,0                    | 46,7                | 40,0                   | 60,0                    | 33,3                    |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

**Tabela 12e.** Avaliação esquelética (retardos) de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação)

|                               | Estressado          |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
|-------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                               | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado          |                        |                         |                         |
|                               | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados               | 84                  | 74                     | 72                      | 75                      | 81                  | 79                     | 80                      | 78                      |
| Ninhadas Avaliadas            | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Esternébrrio</b>           |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| <i>Rudimentar</i>             |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 29 / 84             | 32 / 74                | 20 / 72                 | 16 / 75                 | 36 / 81             | 30 / 79                | 25 / 80                 | 19 / 78 <sup>b</sup>    |
| %                             | 34,5                | 43,2                   | 27,8                    | 21,3                    | 44,4                | 38,0                   | 31,3                    | 24,4                    |
| Ninhadas afetadas             | 15 / 15             | 12 / 15                | 12 / 15                 | 9 / 15 <sup>a</sup>     | 13 / 15             | 13 / 15                | 9 / 15                  | 14 / 15                 |
| %                             | 100,0               | 80,0                   | 80,00                   | 60,0                    | 86,7                | 86,7                   | 60,0                    | 93,3                    |
| <b>Frontal</b>                |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| <i>Ossificação incompleta</i> |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 84 / 84             | 74 / 74                | 72 / 72                 | 75 / 75                 | 81 / 81             | 79 / 79                | 80 / 80                 | 78 / 78                 |
| %                             | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   |
| Ninhadas afetadas             | 15 / 15             | 15 / 15                | 15 / 15                 | 15 / 15                 | 15 / 15             | 15 / 15                | 15 / 15                 | 15 / 15                 |
| %                             | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   |
| <b>Parietal</b>               |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| <i>Ossificação incompleta</i> |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 80 / 84             | 72 / 74                | 68 / 72                 | 73 / 75                 | 81 / 81             | 79 / 79                | 78 / 80                 | 78 / 78                 |
| %                             | 95,2                | 97,3                   | 94,4                    | 97,3                    | 100,0               | 100,0                  | 97,5                    | 100,0                   |
| Ninhadas afetadas             | 15 / 15             | 15 / 15                | 15 / 15                 | 15 / 15                 | 15 / 15             | 15 / 15                | 15 / 15                 | 15 / 15                 |
| %                             | 100,00              | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 100,0                   |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

**Tabela 12f.** Avaliação esquelética (retardos) de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. (continuação)

|                               | Estressado          |                        |                         |                         |                      |                        |                         |                         |
|-------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                               | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado           |                        |                         |                         |
|                               | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle  | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Fetos Avaliados               | 84                  | 74                     | 72                      | 75                      | 81                   | 78                     | 80                      | 78                      |
| Ninhadas Avaliadas            | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                   | 15                     | 15                      | 15                      |
| <b>Interparietal</b>          |                     |                        |                         |                         |                      |                        |                         |                         |
| <i>Ossificação incompleta</i> |                     |                        |                         |                         |                      |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 35 / 84             | 28 / 74                | 44 / 72 <sup>a</sup>    | 46 / 75 <sup>a</sup>    | 47 / 81 <sup>a</sup> | 53 / 78 <sup>a</sup>   | 53 / 80 <sup>a</sup>    | 56 / 78 <sup>a</sup>    |
| %                             | 41,7                | 37,8                   | 61,1                    | 61,3                    | 58,0                 | 67,9                   | 66,3                    | 71,8                    |
| Ninhadas afetadas             | 12 / 15             | 10 / 15                | 12 / 15                 | 12 / 15                 | 12 / 15              | 14 / 15                | 14 / 15                 | 14 / 15                 |
| %                             | 80,0                | 66,7                   | 80,0                    | 80,0                    | 80,0                 | 93,3                   | 93,3                    | 93,3                    |
| <b>Supraoccipital</b>         |                     |                        |                         |                         |                      |                        |                         |                         |
| <i>Ossificação incompleta</i> |                     |                        |                         |                         |                      |                        |                         |                         |
| Fetos afetados                | 4 / 84              | 2 / 74                 | 7 / 72                  | 4 / 75                  | 5 / 81               | 5 / 78                 | 11 / 80                 | 3 / 78                  |
| %                             | 4,8                 | 2,7                    | 9,7                     | 5,3                     | 6,2                  | 6,4                    | 13,8                    | 3,8                     |
| Ninhadas afetadas             | 4 / 15              | 2 / 15                 | 5 / 15                  | 3 / 15                  | 4 / 15               | 4 / 15                 | 5 / 15                  | 3 / 15                  |
| %                             | 26,7                | 13,3                   | 33,3                    | 20,0                    | 26,7                 | 26,7                   | 33,3                    | 20,0                    |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p > 0,05$ , Teste Exato de Fisher).

#### 4.1.2.6 Avaliação do Número de Centros de Ossificação dos Fetos

O grau de ossificação dos fetos são apresentados na Tabela 13. A contagem do número de falanges anteriores e posteriores, metatarsos, metacarpos, esternóbrios, e a contagem total destes centros de ossificação foram similares nos diferentes grupos experimentais. Apenas o número de vértebras caudais foi significativamente diminuída nos fetos dos grupos estressados controle e tratado com 20 mg/kg/dia, quando comparados aos fetos do grupo não-estressado controle. Esse achado não nos permite concluir efeito do estresse e ou da interação do estresse e do tratamento no desenvolvimento fetal.

**Tabela 13.** Grau de ossificação de fetos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 5 a 19 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                      | Não-Estresado                 |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|----------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                      | Grupo 1<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=15) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=15) |
| Falanges Anteriores  | 1,2 ± 1,6                     | 1,5 ± 1,5                        | 0,7 ± 1,1                         | 1,0 ± 1,2                         | 0,6 ± 1,2                     | 0,8 ± 1,1                        | 0,9 ± 1,6                         | 1,3 ± 1,5                         |
| Metacarpos           | 7,5 ± 0,6                     | 7,7 ± 0,5                        | 7,1 ± 0,8                         | 7,4 ± 0,8                         | 7,3 ± 0,6                     | 7,4 ± 0,6                        | 7,3 ± 0,7                         | 7,5 ± 0,7                         |
| Falanges Posteriores | 0,0 ± 0,0                     | 0,0 ± 0,0                        | 0,0 ± 0,0                         | 0,0 ± 0,0                         | 0,0 ± 0,0                     | 0,0 ± 0,0                        | 0,0 ± 0,0                         | 0,0 ± 0,0                         |
| Metatarsos           | 8,0 ± 0,0                     | 8,0 ± 0,0                        | 8,0 ± 0,0                         | 8,0 ± 0,0                         | 8,0 ± 0,0                     | 8,0 ± 0,0                        | 8,0 ± 0,0                         | 8,0 ± 0,0                         |
| Vértebras Caudais    | 2,9 ± 0,4                     | 2,8 ± 0,4                        | 2,4 ± 0,4                         | 2,6 ± 0,5                         | 2,3 ± 0,5 <sup>a</sup>        | 2,6 ± 0,3                        | 2,8 ± 0,4                         | 2,4 ± 0,3 <sup>a</sup>            |
| Esternébrrios        | 5,6 ± 0,4                     | 5,7 ± 0,4                        | 5,5 ± 0,6                         | 5,4 ± 0,6                         | 5,3 ± 0,6                     | 5,5 ± 0,4                        | 5,6 ± 0,5                         | 5,3 ± 0,6                         |
| Total                | 25,2 ± 2,6                    | 25,7 ± 2,1                       | 23,6 ± 2,5                        | 24,5 ± 2,4                        | 23,5 ± 2,3                    | 24,3 ± 1,7                       | 24,5 ± 2,8                        | 24,6 ± 2,6                        |

<sup>a</sup>Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).

## **4.2 Efeitos no Desenvolvimento Pós-Natal**

### **4.2.1 Avaliação da Toxicidade Materna**

#### **4.2.1.1 Observação Clínica**

Não foram observados sinais clínicos de toxicidade nos animais dos diferentes grupos experimentais.

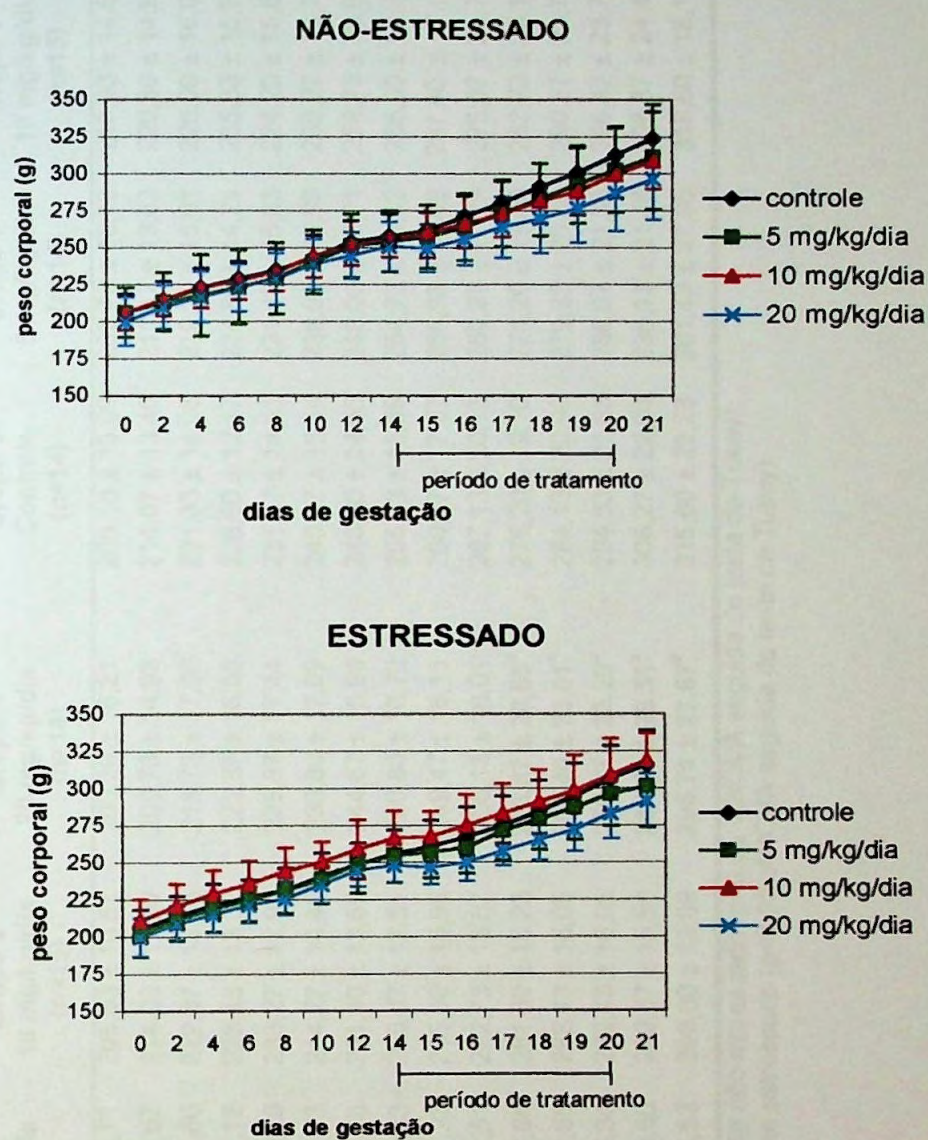
#### **4.2.1.2 Peso Corporal**

Os dados de peso corporal materno durante o período de gestação são apresentados nas Tabelas 14 e 15 e Figuras 8 e 9. O peso corporal dos animais dos grupos tratados com a dose de 20 mg/kg/dia apresentaram redução no peso corporal, a partir do dia 15 de gestação no grupo estressado e a partir do dia 17 de gestação no grupo não-estressado, que manteve-se reduzido até o final do período de gestação, quando comparados aos grupos controle não-estressado e estressado. Entretanto, ao analisarmos o ganho de peso corporal verificamos redução significativa no grupo estressado 20 mg/kg/dia apenas entre os dias 14 a 16 de gestação quando comparado aos grupos controle estressado e não-estressado. O ganho de peso corporal dos animais do grupo não-estressado 20 mg/kg/dia foi significativamente reduzido entre os dias 14 a 18 de gestação quando comparado ao grupo controle não-estressado. Estes dados indicam que o tratamento com o dicofol na maior dose (20 mg/kg/dia) interferiu no peso corporal dos animais estressado e não-estressado, sem haver no entanto efeito do estresse neste parâmetro durante o período de gestação.

Foi feito também o acompanhamento do peso corporal materno durante o período de lactação e estes dados são apresentados nas Tabelas 16 e 17 e Figuras 10 e 11. Os dados indicam que no dia 0 de lactação, as fêmeas do grupo não-estressado tratadas com a dose de 20 mg/kg/dia apresentaram redução no peso corporal. Não foram verificadas outras alterações significativas entre os grupos no peso corporal e no ganho de peso corporal indicando que não houve efeito do



tratamento com o dicofol e do estresse nestes parâmetros durante o período de lactação.



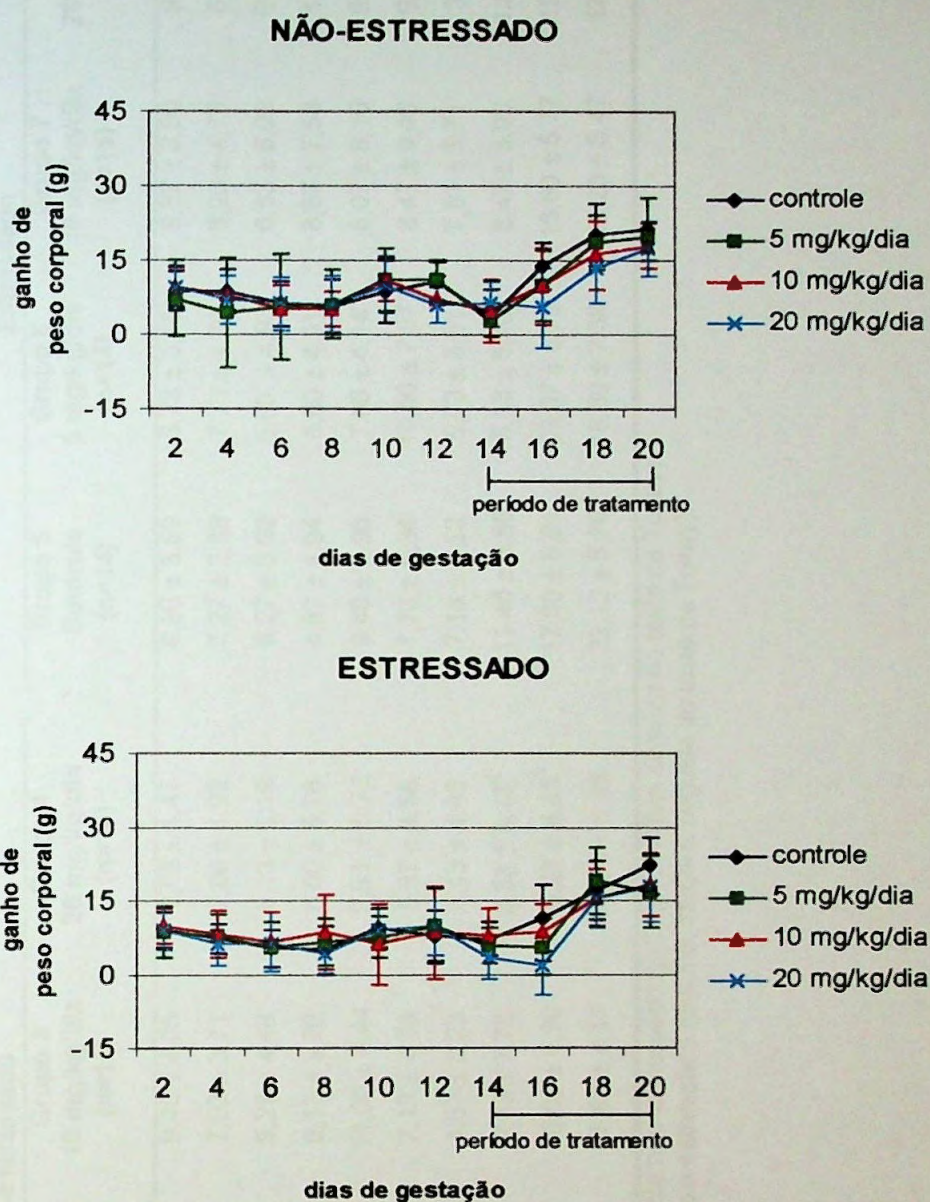
**Figura 8.** Peso corporal (gramas) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 14.** Peso corporal (gramas) durante o período de gestação de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de gestação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   |                               | Estressado                       |                                   |                                   |  |  |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--|--|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |  |  |
| 0                | 205,33 ± 12,90                | 206,00 ± 16,71                   | 205,53 ± 10,87                    | 200,20 ± 16,21                    | 205,13 ± 13,09                | 202,73 ± 16,12                   | 210,93 ± 14,50                    | 199,87 ± 12,99                    |  |  |
| 2                | 213,87 ± 13,16                | 213,20 ± 19,67                   | 214,93 ± 11,30                    | 209,73 ± 14,93                    | 214,07 ± 13,40                | 211,47 ± 13,63                   | 220,80 ± 14,90                    | 209,00 ± 11,86                    |  |  |
| 4                | 222,73 ± 13,39                | 217,67 ± 27,60                   | 222,87 ± 13,53                    | 216,73 ± 17,06                    | 221,33 ± 14,06                | 219,20 ± 15,91                   | 229,00 ± 16,03                    | 215,27 ± 12,34                    |  |  |
| 6                | 229,93 ± 11,87                | 223,27 ± 25,12                   | 228,13 ± 13,32                    | 222,87 ± 16,00                    | 226,60 ± 12,17                | 224,80 ± 14,21                   | 235,53 ± 15,93                    | 221,67 ± 12,32                    |  |  |
| 8                | 234,60 ± 14,52                | 229,27 ± 24,29                   | 233,27 ± 12,99                    | 228,87 ± 17,44                    | 231,47 ± 14,61                | 231,40 ± 15,83                   | 224,20 ± 15,85                    | 226,00 ± 11,28                    |  |  |
| 10               | 243,40 ± 15,16                | 240,27 ± 21,73                   | 244,27 ± 14,46                    | 238,80 ± 17,09                    | 240,87 ± 15,44                | 239,00 ± 16,92                   | 250,27 ± 13,78                    | 235,00 ± 12,48                    |  |  |
| 12               | 253,87 ± 14,16                | 251,27 ± 21,66                   | 251,40 ± 13,69                    | 244,67 ± 15,96                    | 248,60 ± 14,65                | 249,00 ± 19,71                   | 258,73 ± 19,88                    | 244,73 ± 10,87                    |  |  |
| 14               | 257,47 ± 15,33                | 254,20 ± 20,83                   | 256,07 ± 12,51                    | 250,80 ± 16,72                    | 255,73 ± 15,69                | 254,73 ± 18,13                   | 266,60 ± 18,36                    | 248,07 ± 11,35                    |  |  |
| 15               | 261,27 ± 12,38                | 257,40 ± 21,23                   | 265,80 ± 15,95                    | 249,47 ± 16,15                    | 260,47 ± 17,97                | 256,93 ± 17,45                   | 267,40 ± 17,00                    | 246,40 ± 11,29 <sup>a</sup>       |  |  |
| 16               | 271,20 ± 13,76                | 264,13 ± 22,51                   | 272,73 ± 15,57                    | 256,13 ± 18,01                    | 267,13 ± 20,13                | 260,27 ± 17,29                   | 275,07 ± 20,71                    | 249,93 ± 12,71 <sup>ab</sup>      |  |  |
| 17               | 280,13 ± 14,58                | 273,13 ± 22,84                   | 281,80 ± 15,23                    | 263,87 ± 20,65 <sup>a</sup>       | 275,20 ± 19,10                | 271,20 ± 19,40                   | 282,93 ± 20,13                    | 258,00 ± 10,32 <sup>ab</sup>      |  |  |
| 18               | 291,20 ± 15,99                | 282,60 ± 24,55                   | 288,13 ± 16,05                    | 269,40 ± 23,01 <sup>a</sup>       | 284,13 ± 20,90                | 279,33 ± 20,66                   | 290,67 ± 21,72                    | 265,33 ± 13,77 <sup>ab</sup>      |  |  |
| 19               | 300,73 ± 16,91                | 292,80 ± 26,34                   | 288,13 ± 16,05                    | 276,67 ± 23,29 <sup>a</sup>       | 294,53 ± 21,83                | 286,67 ± 21,55                   | 298,47 ± 23,73                    | 272,20 ± 14,71 <sup>ab</sup>      |  |  |
| 20               | 312,53 ± 19,72                | 302,33 ± 28,50                   | 299,67 ± 15,56                    | 286,73 ± 25,51 <sup>a</sup>       | 306,27 ± 22,03                | 296,13 ± 21,46                   | 308,87 ± 24,43                    | 283,07 ± 16,91 <sup>ab</sup>      |  |  |
| 21               | 324,08 ± 18,07                | 311,31 ± 35,53                   | 309,08 ± 19,09                    | 296,71 ± 27,67 <sup>a</sup>       | 315,60 ± 23,23                | 301,43 ± 27,95                   | 318,60 ± 18,15                    | 291,67 ± 18,01 <sup>ab</sup>      |  |  |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).



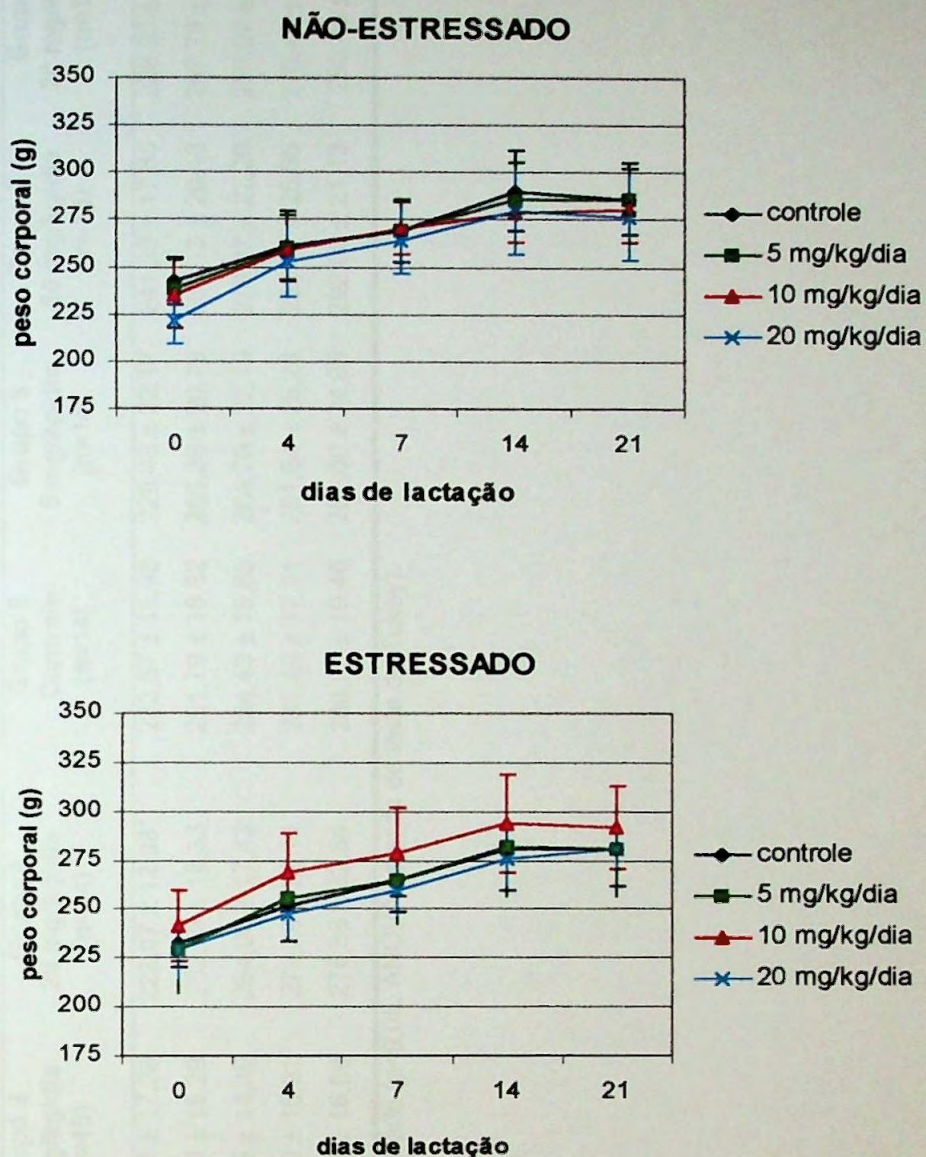
**Figura 9.** Ganho de peso corporal (gramas) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 15.** Ganho de peso corporal (gramas) durante o período de gestação de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de gestação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| 0-2              | 8,53 ± 3,98                   | 7,20 ± 7,65                      | 9,40 ± 4,05                       | 9,53 ± 4,47                       | 8,93 ± 3,69                   | 8,73 ± 5,15                      | 9,87 ± 3,50                       | 9,13 ± 4,27                       |
| 2-4              | 8,87 ± 4,29                   | 4,47 ± 11,05                     | 7,93 ± 3,71                       | 7,00 ± 4,93                       | 7,27 ± 2,89                   | 7,73 ± 4,30                      | 8,20 ± 4,75                       | 6,27 ± 4,27                       |
| 4-6              | 6,20 ± 4,46                   | 5,60 ± 10,53                     | 5,27 ± 4,48                       | 6,13 ± 5,19                       | 5,27 ± 3,90                   | 5,60 ± 4,93                      | 6,53 ± 6,02                       | 6,40 ± 5,67                       |
| 6-8              | 5,67 ± 5,54                   | 6,00 ± 6,93                      | 5,13 ± 3,70                       | 6,00 ± 5,76                       | 4,87 ± 4,94                   | 6,60 ± 4,91                      | 8,67 ± 7,58                       | 4,33 ± 4,20                       |
| 8-10             | 8,80 ± 6,26                   | 11,00 ± 6,20                     | 11,00 ± 4,44                      | 9,93 ± 5,73                       | 9,40 ± 3,96                   | 7,60 ± 4,14                      | 6,07 ± 8,10                       | 9,00 ± 4,12                       |
| 10-12            | 10,47 ± 4,10                  | 11,00 ± 4,12                     | 7,13 ± 4,76                       | 5,87 ± 3,58                       | 7,73 ± 5,34                   | 10,00 ± 7,57                     | 8,47 ± 9,46                       | 9,73 ± 5,76                       |
| 12-14            | 3,60 ± 5,30                   | 2,93 ± 3,41                      | 4,67 ± 6,23                       | 6,13 ± 4,45                       | 7,13 ± 3,52                   | 5,73 ± 3,61                      | 7,87 ± 5,71                       | 3,33 ± 4,32                       |
| 14-16            | 13,73 ± 4,70                  | 9,93 ± 7,05                      | 9,73 ± 7,78                       | <b>5,33 ± 8,13<sup>a</sup></b>    | 11,40 ± 6,86                  | 5,53 ± 5,78                      | 8,47 ± 5,93                       | <b>1,87 ± 6,03<sup>ab</sup></b>   |
| 16-18            | 20,00 ± 6,35                  | 18,47 ± 5,57                     | 16,00 ± 6,90                      | <b>13,27 ± 6,85<sup>a</sup></b>   | 17,00 ± 6,01                  | 19,07 ± 6,73                     | 15,60 ± 5,77                      | 15,40 ± 6,07                      |
| 18-21            | 21,33 ± 6,31                  | 19,73 ± 7,89                     | 17,87 ± 4,47                      | 17,33 ± 5,45                      | 22,13 ± 5,78                  | 16,80 ± 7,38                     | 18,20 ± 6,47                      | 17,73 ± 7,24                      |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).

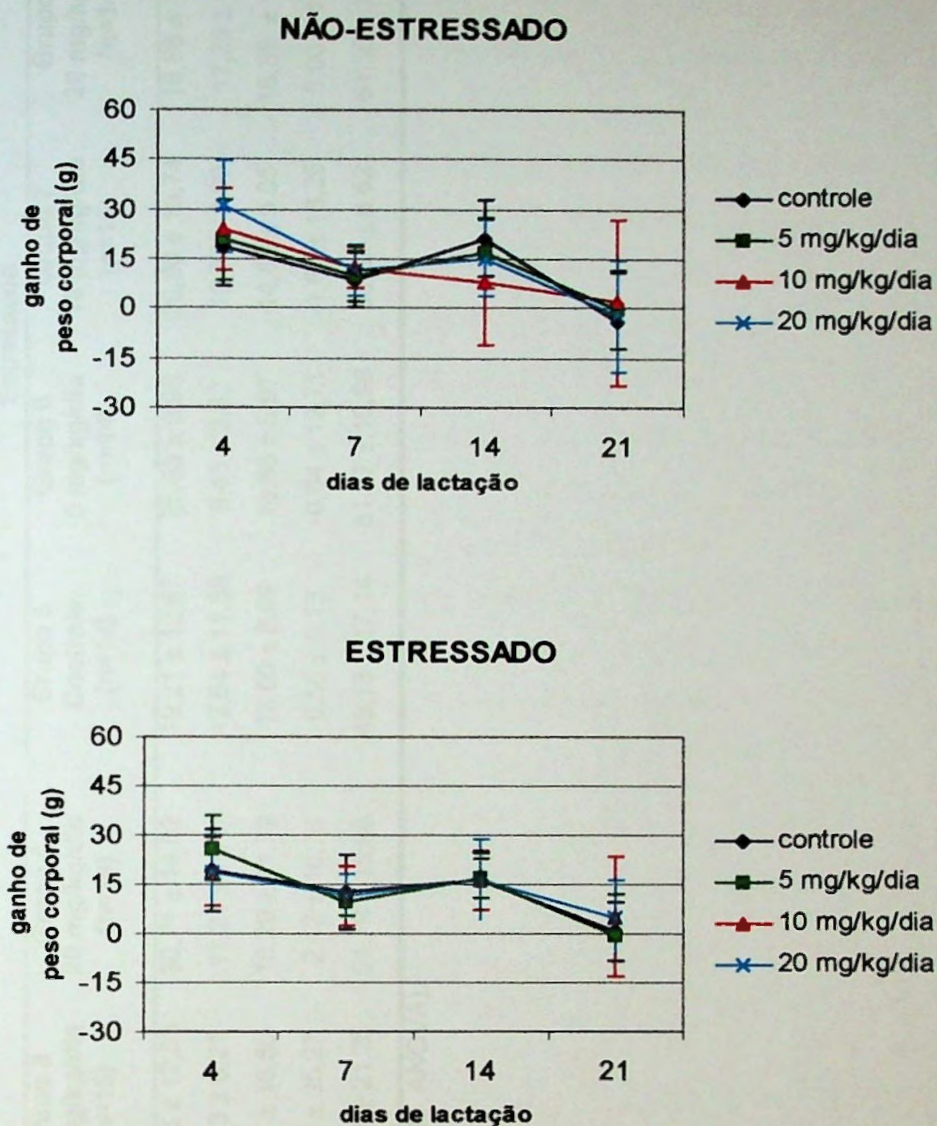


**Figura 10.** Peso corporal (gramas) de ratas durante o período de lactação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 16.** Peso corporal materno (gramas) durante o período de lactação de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de lactação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| 0                | 242,36 ± 12,74                | 238,67 ± 14,63                   | 234,67 ± 17,28                    | 222,07 ± 12,98 <sup>a</sup>       | 232,57 ± 15,98                | 229,43 ± 22,17                   | 241,33 ± 17,85                    | 228,93 ± 14,75                    |
| 4                | 260,64 ± 18,48                | 259,53 ± 18,05                   | 258,60 ± 15,29                    | 252,79 ± 18,33                    | 251,79 ± 18,82                | 255,36 ± 20,79                   | 268,13 ± 20,18                    | 247,79 ± 11,54                    |
| 7                | 269,14 ± 16,08                | 269,40 ± 16,89                   | 270,73 ± 14,39                    | 264,00 ± 17,43                    | 264,43 ± 15,85                | 264,79 ± 22,19                   | 279,07 ± 22,20                    | 259,07 ± 12,60                    |
| 14               | 290,29 ± 21,32                | 286,00 ± 19,05                   | 278,60 ± 15,91                    | 279,29 ± 22,14                    | 280,43 ± 17,31                | 281,64 ± 25,24                   | 293,67 ± 25,35                    | 275,43 ± 13,54                    |
| 21               | 286,29 ± 19,37                | 285,33 ± 16,69                   | 280,33 ± 16,89                    | 276,86 ± 22,84                    | 280,93 ± 19,46                | 281,00 ± 24,05                   | 292,00 ± 21,13                    | 280,43 ± 9,83                     |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).



**Figura 11.** Ganho de peso corporal (gramas) de ratas durante o período de lactação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 17.** Ganho de peso corporal materno (gramas) durante o período de lactação de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de lactação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| 0 - 4            | 18,29 ± 11,74                 | 20,87 ± 12,11                    | 23,93 ± 12,33                     | 30,71 ± 14,02                     | 19,21 ± 12,67                 | 25,93 ± 9,98                     | 26,80 ± 10,74                     | 18,86 ± 11,25                     |
| 4 - 7            | 8,50 ± 8,48                   | 9,87 ± 7,61                      | 12,13 ± 6,21                      | 11,21 ± 7,71                      | 12,64 ± 11,39                 | 9,43 ± 3,82                      | 10,93 ± 8,90                      | 11,29 ± 6,83                      |
| 7 - 14           | 21,14 ± 11,68                 | 16,60 ± 10,76                    | 7,87 ± 18,80                      | 15,29 ± 11,79                     | 16,00 ± 8,69                  | 16,86 ± 5,97                     | 14,60 ± 9,05                      | 16,36 ± 12,35                     |
| 14 - 21          | -4,00 ± 15,61                 | -0,67 ± 11,69                    | 1,73 ± 25,27                      | -2,43 ± 16,78                     | 0,50 ± 9,13                   | -0,64 ± 12,71                    | -1,67 ± 18,25                     | 5,00 ± 11,22                      |
| 0 - 21           | 43,93 ± 17,02                 | 46,67 ± 7,33                     | 45,67 ± 21,25                     | 54,79 ± 15,98                     | 45,13 ± 17,14                 | 51,57 ± 10,98                    | 50,67 ± 8,62                      | 51,50 ± 11,83                     |

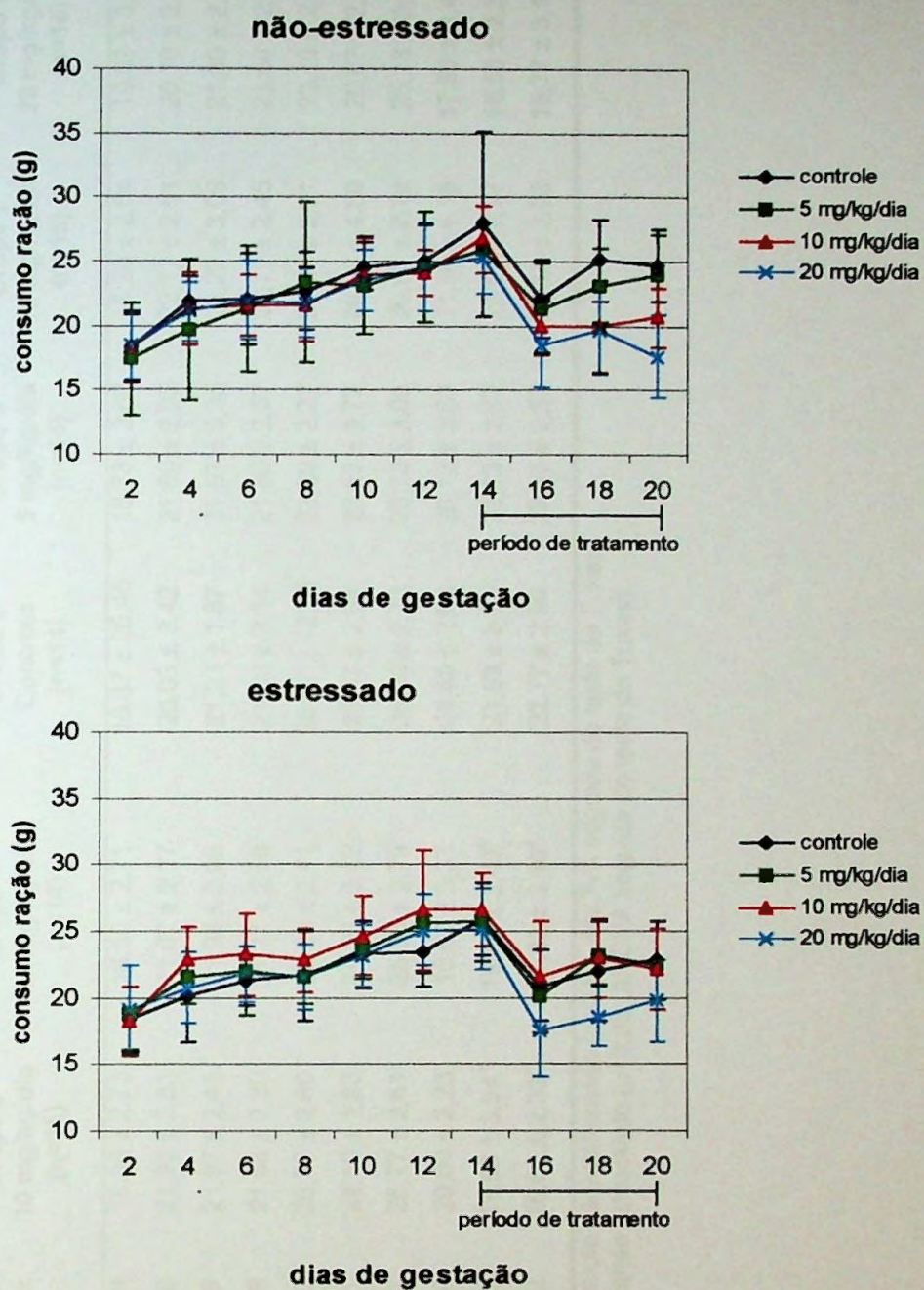
Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA).



#### **4.2.1.3 Consumo de Ração**

Os dados do consumo de ração durante a gestação e a lactação são apresentados nas Tabelas 18 e 19 e nas Figuras 12 e 13. Foi verificada redução no consumo de ração no final do período de gestação nos grupos não-estressados tratados com as doses de 20 e 10 mg/kg/dia, quando comparados ao grupo controle não-estressado, e no grupo estressado tratado com a dose de 20 mg/kg/dia, em comparação aos grupos controle não-estressado e estressado. As reduções observadas no consumo de ração estão relacionadas à diminuição no peso corporal observado no final do período de gestação, indicando sinais leves de intoxicação materna.

No grupo não-estressado tratado com 20 mg/kg/dia foi verificado aumento no consumo de ração no início da lactação quando comparado ao grupo controle não-estressado, mas não podemos atribuir como efeito adverso ao tratamento.



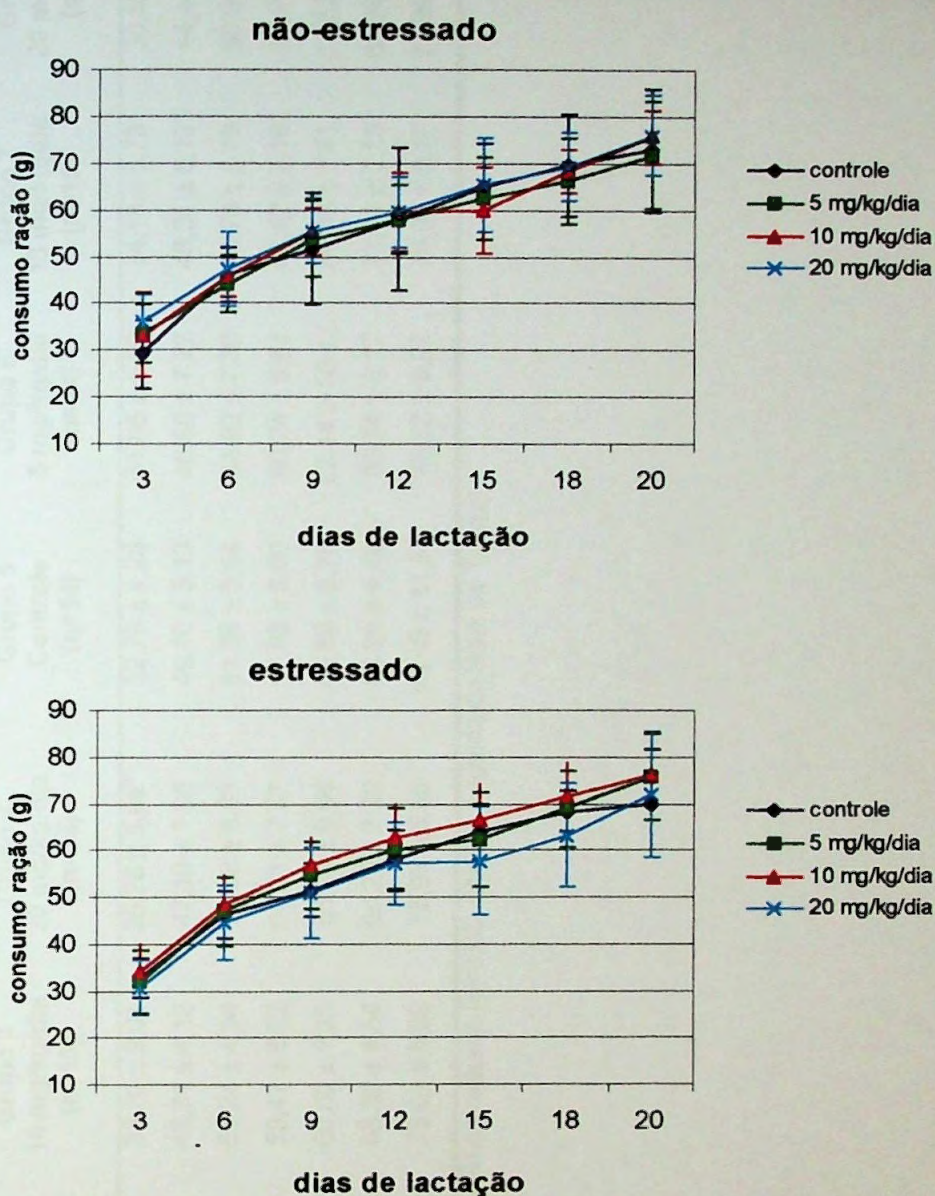
**Figura 12.** Consumo de ração (gramas/animal/dia) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 18.** Consumo de ração materno (gramas/animal/dia) durante o período de gestação de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de gestação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| 2                | 18,27 ± 2,62                  | 17,40 ± 4,39                     | 18,30 ± 2,73                      | 18,50 ± 2,71                      | 18,37 ± 25,45                 | 18,73 ± 2,60                     | 18,20 ± 2,64                      | 19,07 ± 3,29                      |
| 4                | 21,93 ± 1,93                  | 19,67 ± 5,48                     | 21,30 ± 2,83                      | 21,07 ± 2,37                      | 20,03 ± 3,42                  | 21,60 ± 2,05                     | 22,77 ± 2,51                      | 20,70 ± 2,64                      |
| 6                | 22,03 ± 3,55                  | 21,27 ± 4,89                     | 21,57 ± 2,43                      | 21,93 ± 3,05                      | 21,23 ± 1,87                  | 21,97 ± 3,38                     | 23,20 ± 3,09                      | 21,80 ± 2,11                      |
| 8                | 22,63 ± 3,05                  | 23,37 ± 6,29                     | 21,63 ± 2,89                      | 21,77 ± 2,68                      | 21,63 ± 3,34                  | 21,60 ± 2,07                     | 22,77 ± 2,45                      | 21,50 ± 2,43                      |
| 10               | 24,60 ± 1,87                  | 23,13 ± 3,72                     | 23,97 ± 2,86                      | 23,50 ± 2,41                      | 26,57 ± 12,25                 | 23,60 ± 2,27                     | 24,63 ± 2,91                      | 23,10 ± 2,32                      |
| 12               | 25,07 ± 2,72                  | 24,50 ± 4,31                     | 24,10 ± 1,83                      | 24,60 ± 3,42                      | 23,47 ± 2,64                  | 25,57 ± 3,77                     | 26,53 ± 4,60                      | 25,07 ± 2,72                      |
| 14               | 27,90 ± 7,23                  | 25,90 ± 3,42                     | 26,77 ± 2,61                      | 25,23 ± 2,79                      | 25,90 ± 2,73                  | 25,73 ± 3,05                     | 26,63 ± 2,74                      | 25,13 ± 3,05                      |
| 16               | 22,10 ± 3,00                  | 21,33 ± 3,49                     | 20,00 ± 2,23                      | 18,50 ± 3,33                      | 20,83 ± 2,68                  | 20,17 ± 2,83                     | 21,50 ± 4,18                      | <b>17,53 ± 3,44<sup>ab</sup></b>  |
| 18               | 25,10 ± 3,24                  | 23,13 ± 2,89                     | <b>19,93 ± 3,54<sup>a</sup></b>   | <b>19,67 ± 3,49<sup>a</sup></b>   | 21,93 ± 3,77                  | 23,13 ± 2,12                     | 22,93 ± 2,97                      | <b>18,53 ± 2,25<sup>ab</sup></b>  |
| 20               | 24,70 ± 2,80                  | 23,93 ± 3,12                     | <b>20,63 ± 2,33<sup>a</sup></b>   | <b>17,63 ± 3,18<sup>a</sup></b>   | 22,77 ± 2,89                  | 22,37 ± 2,57                     | 22,17 ± 3,03                      | <b>19,77 ± 3,12<sup>ab</sup></b>  |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).

<sup>b</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).



**Figura 13.** Consumo de ração (gramas/animal/dia) de ratas durante o período de lactação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 19.** Consumo de ração materno (gramas/animal/dia) durante o período de lactação de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dias de lactação | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   |                               | Estressado                       |                                   |                                   |  |  |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--|--|
|                  | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |  |  |
| 3                | 29,14 ± 7,31                  | 33,47 ± 6,36                     | 33,20 ± 9,01                      | <b>35,76 ± 5,88<sup>a</sup></b>   | 32,79 ± 4,28                  | 31,86 ± 6,59                     | 34,18 ± 5,73                      | 30,52 ± 5,81                      |  |  |
| 6                | 46,12 ± 5,93                  | 44,13 ± 6,07                     | 45,71 ± 4,12                      | 47,10 ± 7,96                      | 46,10 ± 5,13                  | 46,88 ± 7,22                     | 48,24 ± 6,19                      | 44,48 ± 7,85                      |  |  |
| 9                | 51,64 ± 12,00                 | 53,73 ± 8,12                     | 55,24 ± 4,94                      | 55,38 ± 6,83                      | 51,38 ± 5,64                  | 54,62 ± 7,30                     | 56,76 ± 5,79                      | 50,90 ± 9,62                      |  |  |
| 12               | 57,95 ± 15,37                 | 57,93 ± 7,27                     | 59,47 ± 8,52                      | 59,31 ± 7,57                      | 57,86 ± 6,60                  | 60,24 ± 8,63                     | 62,42 ± 7,16                      | 57,29 ± 8,80                      |  |  |
| 15               | 64,81 ± 9,47                  | 62,44 ± 8,84                     | 60,00 ± 9,25                      | 65,29 ± 9,96                      | 63,86 ± 5,78                  | 62,14 ± 10,12                    | 66,38 ± 7,61                      | 57,62 ± 11,57                     |  |  |
| 18               | 69,52 ± 10,92                 | 65,93 ± 9,23                     | 68,36 ± 4,54                      | 69,26 ± 7,39                      | 68,26 ± 4,46                  | 68,74 ± 8,17                     | 71,64 ± 7,13                      | 63,24 ± 10,99                     |  |  |
| 21               | 72,81 ± 13,20                 | 71,67 ± 11,43                    | 75,64 ± 5,60                      | 75,93 ± 8,66                      | 69,98 ± 11,50                 | 75,52 ± 9,27                     | 76,04 ± 8,77                      | 71,98 ± 13,36                     |  |  |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).

#### **4.2.1.4 Comportamento Materno**

Os dados relativos ao comportamento materno são apresentados na Tabela 20. Não foram observadas alterações no comportamento materno entre os diferentes grupos experimentais, indicando que o estresse e o dicofol não alteraram os padrões comportamentais materno.

---

**Tabela 20.** Comportamento materno durante o período de gestação e lactação de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                 | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|-----------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                 | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| <b>Gestação</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Dia 19          | 1,0 ± 0,0                     | 0,9 ± 0,3                        | 0,7 ± 0,5                         | 0,9 ± 0,3                         | 0,9 ± 0,3                     | 1,0 ± 0,0                        | 0,9 ± 0,3                         | 0,9 ± 0,4                         |
| Dia 20          | 1,0 ± 0,0                     | 1,0 ± 0,0                        | 0,9 ± 0,4                         | 0,9 ± 0,3                         | 1,0 ± 0,0                     | 0,9 ± 0,3                        | 0,9 ± 0,3                         | 0,9 ± 0,3                         |
| Dia 21          | 0,9 ± 0,4                     | 0,8 ± 0,4                        | 0,9 ± 0,3                         | 0,9 ± 0,3                         | 0,9 ± 0,3                     | 0,8 ± 0,4                        | 0,9 ± 0,3                         | 1,0 ± 0,0                         |
| Dia 22          | 1,4 ± 1,0                     | 1,4 ± 1,4                        | 0,9 ± 0,3                         | 1,2 ± 0,6                         | 1,7 ± 1,3                     | 1,7 ± 1,3                        | 1,8 ± 1,4                         | 1,3 ± 0,9                         |
| Dia 23          | 3,2 ± 1,3                     | 1,5 ± 0,6                        | 4,0 ± 0,0                         | 2,5 ± 2,1                         | 4,0 ± 0,0                     | 2,5 ± 2,1                        | 3,0 ± 1,4                         | 3,7 ± 0,6                         |
| <b>Lactação</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Dia 0 - 7       | 27,4 ± 3,0                    | 26,7 ± 3,2                       | 26,1 ± 3,4                        | 26,8 ± 3,4                        | 26,2 ± 2,5                    | 28,8 ± 2,0                       | 25,8 ± 3,0                        | 25,1 ± 2,3                        |
| Dia 8 - 14      | 19,4 ± 2,8                    | 18,4 ± 3,4                       | 18,9 ± 3,3                        | 19,5 ± 3,2                        | 18,1 ± 2,5                    | 19,2 ± 3,0                       | 19,3 ± 3,8                        | 19,7 ± 2,2                        |
| Dia 15 - 21     | 16,5 ± 2,8                    | 18,6 ± 3,3                       | 16,6 ± 2,9                        | 17,6 ± 2,2                        | 15,8 ± 3,1                    | 17,5 ± 2,9                       | 16,9 ± 2,4                        | 17,8 ± 3,4                        |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

#### **4.2.1.5 Peso dos Órgãos**

Os pesos dos órgãos maternos são apresentados na Tabela 21. Foi observado que o grupo estressado tratado com a dose de 20 mg/kg/dia apresentou aumento no peso absoluto e relativo da hipófise apenas quando comparado ao grupo controle não-estressado, não nos permitindo atribuir esse efeito ao tratamento associado ao estresse. Não foram observadas diferenças significativas nos pesos absoluto e relativo dos demais órgãos nos diferentes grupos experimentais.



**Tabela 21.** Pesos absoluto e relativo (ao peso corporal) dos órgãos de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                          | Não-Estressado     |                       |                        |                        | Estressado         |                       |                        |                             |
|--------------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------|
|                          | Grupo 1            | Grupo 2               | Grupo 3                | Grupo 4                | Grupo 1            | Grupo 2               | Grupo 3                | Grupo 4                     |
|                          | Controle<br>(n=15) | 5 mg/kg/dia<br>(n=15) | 10 mg/kg/dia<br>(n=15) | 20 mg/kg/dia<br>(n=15) | Controle<br>(n=15) | 5 mg/kg/dia<br>(n=15) | 10 mg/kg/dia<br>(n=15) | 20 mg/kg/dia<br>(n=15)      |
| <b>Peso corporal (g)</b> | 251,08 ± 17,73     | 247,31 ± 17,38        | 242,33 ± 18,26         | 240,41 ± 11,08         | 246,03 ± 14,45     | 241,75 ± 17,34        | 251,63 ± 11,08         | 232,08 ± 18,01 <sup>a</sup> |
| <b>Hipófise</b>          |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (mg)            | 9,63 ± 1,55        | 10,00 ± 3,18          | 10,13 ± 2,67           | 9,92 ± 1,59            | 10,19 ± 2,86       | 10,73 ± 2,69          | 10,80 ± 3,59           | 12,43 ± 3,50 <sup>a</sup>   |
| Relativo                 | 3,85 ± 0,67        | 4,06 ± 1,34           | 4,20 ± 1,11            | 4,14 ± 0,69            | 4,15 ± 1,16        | 4,45 ± 1,08           | 4,28 ± 1,38            | 5,40 ± 1,57 <sup>a</sup>    |
| <b>Timo</b>              |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (g)             | 0,31 ± 0,08        | 0,29 ± 0,05           | 0,28 ± 0,08            | 0,34 ± 0,06            | 0,31 ± 0,10        | 0,26 ± 0,08           | 0,30 ± 0,10            | 0,32 ± 0,09                 |
| Relativo                 | 0,13 ± 0,03        | 0,12 ± 0,02           | 0,12 ± 0,03            | 0,14 ± 0,03            | 0,13 ± 0,04        | 0,11 ± 0,04           | 0,12 ± 0,04            | 0,14 ± 0,04                 |
| <b>Rim direito</b>       |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (mg)            | 1,03 ± 0,09        | 0,99 ± 0,11           | 1,02 ± 0,18            | 0,92 ± 0,08            | 0,95 ± 0,13        | 1,01 ± 0,15           | 1,03 ± 0,15            | 0,92 ± 0,08                 |
| Relativo                 | 0,41 ± 0,04        | 0,40 ± 0,04           | 0,42 ± 0,07            | 0,38 ± 0,03            | 0,39 ± 0,04        | 0,42 ± 0,04           | 0,41 ± 0,05            | 0,40 ± 0,05                 |
| <b>Rim esquerdo</b>      |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (mg)            | 0,98 ± 0,08        | 0,94 ± 0,10           | 1,01 ± 0,16            | 0,89 ± 0,10            | 0,90 ± 0,13        | 0,95 ± 0,10           | 1,00 ± 0,14            | 0,88 ± 0,07                 |
| Relativo                 | 0,39 ± 0,03        | 0,38 ± 0,03           | 0,42 ± 0,08            | 0,37 ± 0,03            | 0,37 ± 0,04        | 0,39 ± 0,03           | 0,40 ± 0,05            | 0,38 ± 0,04                 |
| <b>Adrenal direita</b>   |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (mg)            | 43,71 ± 6,79       | 41,20 ± 4,46          | 44,67 ± 10,30          | 36,86 ± 6,62           | 40,14 ± 7,78       | 43,13 ± 6,20          | 40,27 ± 10,54          | 40,64 ± 10,19               |
| Relativo                 | 17,47 ± 2,81       | 16,74 ± 2,20          | 18,65 ± 4,78           | 15,33 ± 2,70           | 16,32 ± 3,02       | 17,87 ± 2,53          | 15,92 ± 3,68           | 17,77 ± 5,43                |
| <b>Adrenal esquerda</b>  |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (mg)            | 46,64 ± 8,71       | 45,60 ± 5,87          | 50,40 ± 7,39           | 42,57 ± 8,44           | 44,86 ± 9,43       | 47,53 ± 5,03          | 45,80 ± 6,10           | 42,36 ± 8,69                |
| Relativo                 | 18,69 ± 3,64       | 18,49 ± 2,53          | 20,92 ± 3,62           | 17,66 ± 3,16           | 18,20 ± 3,44       | 19,74 ± 2,43          | 18,19 ± 2,16           | 18,25 ± 3,41                |
| <b>Baço</b>              |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (g)             | 0,61 ± 0,08        | 0,60 ± 0,06           | 0,61 ± 0,08            | 0,60 ± 0,09            | 0,59 ± 0,04        | 0,59 ± 0,05           | 0,58 ± 0,07            | 0,54 ± 0,05                 |
| Relativo                 | 0,25 ± 0,03        | 0,24 ± 0,02           | 0,25 ± 0,03            | 0,25 ± 0,04            | 0,24 ± 0,02        | 0,24 ± 0,03           | 0,23 ± 0,03            | 0,24 ± 0,03                 |
| <b>Fígado</b>            |                    |                       |                        |                        |                    |                       |                        |                             |
| Absoluto (g)             | 11,39 ± 1,76       | 10,89 ± 1,96          | 11,09 ± 2,10           | 9,79 ± 1,20            | 9,77 ± 1,17        | 10,91 ± 1,50          | 10,99 ± 2,46           | 9,78 ± 0,81                 |
| Relativo                 | 4,53 ± 0,58        | 4,40 ± 0,68           | 4,57 ± 0,68            | 4,07 ± 0,43            | 3,97 ± 0,38        | 4,51 ± 0,48           | 4,36 ± 0,93            | 4,24 ± 0,56                 |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle não-estressado (p<0,05, ANOVA seguida do teste de Tukey).

#### **4.2.1.6 Performance Reprodutiva**

Os dados referentes à performance reprodutiva materna são apresentados na Tabela 22. A análise dos dados relativos ao número de fêmeas prenhes e com filhotes viáveis, ao tempo de duração da gestação, ao número de filhotes nascidos, ao número de filhotes viáveis no dia do nascimento, e aos índices de gestação e de nascidos vivos, não revelou influência do estresse, do tratamento com dicofol ou da interação entre os dois fatores.

**Tabela 22.** Performance reprodutiva de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação.

|                                | Estressado          |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
|--------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                | Não-Estressado      |                        |                         |                         | Estressado          |                        |                         |                         |
|                                | Grupo 1<br>Controle | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia | Grupo 5<br>Controle | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia |
| Nº fêmeas prenhes              | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      | 15                  | 15                     | 15                      | 15                      |
| Nº fêmeas com filhotes viáveis | 14                  | 15                     | 15                      | 14                      | 15                  | 15                     | 15                      | 14                      |
| Duração da gestação (dias)     |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Média ± D.P.                   | 22,4 ± 0,8          | 22,6 ± 1,2             | 22,3 ± 0,7              | 22,6 ± 0,7              | 22,4 ± 0,5          | 22,5 ± 0,7             | 22,1 ± 1,0              | 22,6 ± 0,5              |
| Nº filhotes nascidos           |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Total                          | 147                 | 146                    | 151                     | 142                     | 157                 | 151                    | 154                     | 119                     |
| Média ± D.P.                   | 9,8 ± 2,6           | 9,7 ± 2,5              | 10,1 ± 1,1              | 9,5 ± 3,0               | 10,5 ± 1,6          | 10,1 ± 2,3             | 10,3 ± 2,5              | 8,5 ± 2,5               |
| Número de filhotes viáveis     |                     |                        |                         |                         |                     |                        |                         |                         |
| Total                          | 133                 | 144                    | 150                     | 139                     | 147                 | 142                    | 154                     | 110                     |
| Média ± D.P.                   | 8,9 ± 3,5           | 9,6 ± 2,7              | 10,0 ± 1,2              | 9,3 ± 3,5               | 9,8 ± 2,2           | 9,5 ± 3,4              | 10,3 ± 2,5              | 7,9 ± 2,9               |
| Índice de gestação (%)         | 93,3                | 100,0                  | 100,0                   | 93,3                    | 100,0               | 100,0                  | 100,0                   | 93,3                    |
| Índice de nascidos vivos (%)   | 90,5                | 98,6                   | 99,3                    | 97,9                    | 93,6                | 94,0                   | 100,0                   | 92,4                    |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ , teste do Qui-Quadrado).

### **4.1.3 Avaliação Pós-Natal dos Filhotes**

#### **4.1.3.1 Status dos Filhotes Durante o Período Pós-Natal**

O tratamento com dicofol e a indução do estresse não influenciaram no número de filhotes vivos e mortos nos dias 0, 4 (antes e após padronização) e 21 pós-natal (Tabelas 23a, 23b e 23c). A razão sexual dos filhotes nos dia 0 e 21 pós-natal também não apresentou diferenças entre os grupos experimentais.

#### **4.1.3.2 Distância Anogenital**

A avaliação da distância anogenital no dia do nascimento de filhotes machos e fêmeas não apresentaram influência do estresse, do dicofol ou da interação destes fatores (Tabela 24).

**Tabela 23a.** Status ao nascimento (dia 0 pós-natal) dos filhotes de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação.

|                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
|-------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                   | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|                   | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| Nº filhotes vivos |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total             | 133                           | 144                              | 150                               | 139                               | 147                           | 142                              | 154                               | 110                               |
| Média ± D.P.      | 8,9 ± 3,5                     | 9,6 ± 2,7                        | 10,0 ± 1,2                        | 9,3 ± 3,5                         | 9,8 ± 2,2                     | 9,5 ± 3,4                        | 10,3 ± 2,5                        | 7,9 ± 2,9                         |
| Machos            |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total             | 60                            | 73                               | 71                                | 63                                | 77                            | 58                               | 77                                | 60                                |
| Média ± D.P.      | 4,0 ± 2,8                     | 4,9 ± 1,6                        | 4,7 ± 1,4                         | 4,2 ± 2,1                         | 5,1 ± 1,9                     | 3,9 ± 1,9                        | 5,1 ± 1,7                         | 4,3 ± 1,8                         |
| Fêmeas            |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total             | 73                            | 71                               | 79                                | 76                                | 70                            | 84                               | 77                                | 50                                |
| Média ± D.P.      | 4,9 ± 2,4                     | 4,7 ± 2,3                        | 5,3 ± 1,5                         | 5,1 ± 2,2                         | 4,7 ± 1,5                     | 5,6 ± 2,6                        | 5,1 ± 1,7                         | 3,6 ± 2,2                         |
| Mortos            |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total             | 14                            | 2                                | 1                                 | 3                                 | 10                            | 9                                | 0                                 | 9                                 |
| Média ± D.P.      | 0,9 ± 2,2                     | 0,1 ± 0,5                        | 0,1 ± 0,3                         | 0,2 ± 0,8                         | 0,7 ± 1,3                     | 0,6 ± 1,8                        | 0,0 ± 0,0                         | 0,6 ± 1,4                         |
| Razão Sexual      |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Média ± D.P.      | 43,5 ± 20,9                   | 52,7 ± 16,0                      | 47,5 ± 14,1                       | 45,5 ± 13,8                       | 52,0 ± 12,9                   | 44,1 ± 21,1                      | 49,9 ± 12,1                       | 57,8 ± 19,0                       |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 23b.** Status dia 4 pós-natal dos filhotes de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação.

|                              | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                              | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| <i>Antes da padronização</i> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Nº filhotes vivos            | 132                           | 141                              | 149                               | 106                               | 143                           | 141                              | 153                               | 109                               |
| Média ± D.P.                 | 9,43 ± 2,65                   | 9,41 ± 2,75                      | 9,93 ± 1,22                       | 7,57 ± 0,94                       | 10,21 ± 1,63                  | 9,40 ± 3,60                      | 10,20 ± 2,51                      | 7,79 ± 2,89                       |
| <i>Machos</i>                |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                        | 59                            | 73                               | 71                                | 51                                | 75                            | 57                               | 80                                | 60                                |
| Média ± D.P.                 | 4,21 ± 2,64                   | 4,83 ± 1,60                      | 4,43 ± 1,44                       | 3,64 ± 0,84                       | 5,36 ± 1,74                   | 3,80 ± 2,01                      | 5,33 ± 1,63                       | 4,29 ± 1,77                       |
| <i>Fêmeas</i>                |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                        | 73                            | 68                               | 78                                | 55                                | 68                            | 84                               | 73                                | 49                                |
| Média ± D.P.                 | 5,21 ± 2,08                   | 4,53 ± 2,13                      | 5,20 ± 1,57                       | 3,93 ± 1,14                       | 4,86 ± 1,41                   | 5,60 ± 2,56                      | 4,87 ± 1,85                       | 3,50 ± 2,28                       |
| <i>Mortos</i>                |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                        | 1                             | 4                                | 1                                 | 1                                 | 0                             | 1                                | 1                                 | 1                                 |
| Média ± D.P.                 | 0,07 ± 0,27                   | 0,27 ± 0,80                      | 0,07 ± 0,26                       | 0,07 ± 0,27                       | 0,0 ± 0,0                     | 0,07 ± 0,26                      | 0,07 ± 0,26                       | 0,07 ± 0,27                       |
| <i>Após padronização</i>     |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                        | 109                           | 113                              | 120                               | 106                               | 114                           | 106                              | 117                               | 94                                |
| Média ± D.P.                 | 7,79 ± 1,85                   | 7,53 ± 1,36                      | 8,00 ± 0,00                       | 7,57 ± 0,94                       | 8,14 ± 0,53                   | 7,57 ± 1,09                      | 7,80 ± 0,56                       | 6,71 ± 2,02                       |
| <i>Machos</i>                |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                        | 47                            | 58                               | 58                                | 51                                | 57                            | 47                               | 60                                | 52                                |
| Média ± D.P.                 | 3,36 ± 1,60                   | 3,87 ± 0,83                      | 3,87 ± 0,83                       | 3,64 ± 0,84                       | 4,07 ± 0,73                   | 3,36 ± 1,08                      | 4,00 ± 0,85                       | 3,71 ± 1,20                       |
| <i>Fêmeas</i>                |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                        | 62                            | 55                               | 62                                | 55                                | 57                            | 59                               | 57                                | 42                                |
| Média ± D.P.                 | 4,43 ± 1,65                   | 3,67 ± 1,23                      | 4,13 ± 0,83                       | 3,93 ± 1,14                       | 4,07 ± 1,07                   | 4,21 ± 0,97                      | 3,80 ± 0,77                       | 3,00 ± 1,57                       |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 23c.** Status dia 21 pós-natal dos filhotes de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação.

|                      | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|----------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                      | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| Nº de filhotes vivos |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                | 105                           | 113                              | 119                               | 106                               | 104                           | 106                              | 117                               | 94                                |
| Média ± D.P.         | 7,50 ± 1,40                   | 7,53 ± 1,36                      | 7,93 ± 0,26                       | 7,57 ± 0,94                       | 7,43 ± 2,14                   | 7,57 ± 1,09                      | 7,80 ± 0,56                       | 6,71 ± 2,02                       |
| Machos               |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                | 45                            | 58                               | 57                                | 51                                | 53                            | 47                               | 60                                | 52                                |
| Média ± D.P.         | 3,21 ± 1,42                   | 3,87 ± 0,83                      | 3,80 ± 0,94                       | 3,64 ± 0,84                       | 3,79 ± 1,31                   | 3,36 ± 1,08                      | 4,00 ± 0,85                       | 3,71 ± 1,20                       |
| Fêmeas               |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                | 60                            | 55                               | 62                                | 55                                | 51                            | 59                               | 57                                | 42                                |
| Média ± D.P.         | 4,29 ± 1,59                   | 3,67 ± 1,23                      | 4,13 ± 0,83                       | 3,93 ± 1,14                       | 3,64 ± 1,28                   | 4,21 ± 0,97                      | 3,80 ± 0,77                       | 3,00 ± 1,57                       |
| Mortos               |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Total                | 0                             | 0                                | 0                                 | 0                                 | 8                             | 0                                | 0                                 | 0                                 |
| Média ± D.P.         | 0,00 ± 0,00                   | 0,00 ± 0,00                      | 0,00 ± 0,00                       | 0,00 ± 0,00                       | 0,57 ± 2,14                   | 0,00 ± 0,00                      | 0,0 ± 0,0                         | 0,00 ± 0,00                       |
| Razão Sexual         |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Média ± D.P.         | 42,86 ± 17,33                 | 52,50 ± 12,18                    | 47,74 ± 11,30                     | 48,72 ± 11,81                     | 50,96 ± 9,49                  | 43,75 ± 12,09                    | 51,19 ± 9,56                      | 57,90 ± 17,25                     |

Não houve diferenças significativas entre os grupos (p>0,05, Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 24.** Distância anogenital (mm) no dia 0 pós-natal dos filhotes de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|              | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|--------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|              | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| Machos       |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Média ± D.P. | 3,6 ± 0,4                     | 3,7 ± 0,4                        | 3,6 ± 0,4                         | 3,6 ± 0,4                         | 3,4 ± 0,4                     | 3,6 ± 0,4                        | 3,4 ± 0,5                         | 3,6 ± 0,4                         |
| Fêmeas       |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Média ± D.P. | 1,9 ± 0,2                     | 1,9 ± 0,2                        | 1,9 ± 0,2                         | 1,8 ± 0,2                         | 1,9 ± 0,3                     | 1,9 ± 0,1                        | 1,9 ± 0,3                         | 1,9 ± 0,2                         |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).



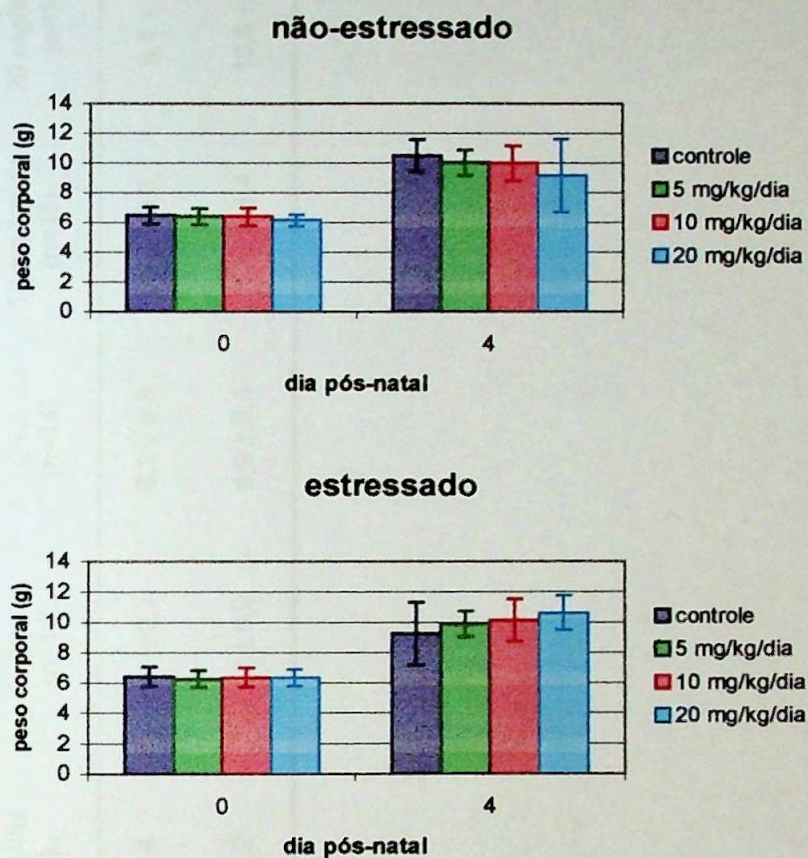
#### 4.1.3.3 Peso Corporal

O peso corporal dos filhotes nos dias 0 e 4 pós-natal (antes da padronização), apresentados na Tabela 25 e na Figura 14, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

A avaliação do peso corporal dos filhotes após a padronização (Tabela 26 e Figuras 15 e 16) mostrou apenas aumento no peso corporal dos filhotes machos do grupo estressado tratado com a dose de 20 mg/kg/dia nos dias 14 e 21 pós-natal somente quando comparados ao grupo controle estressado, não nos permitindo atribuir este efeito ao tratamento com dicofol e ao estresse.

Não foram verificadas alterações no peso corporal dos filhotes fêmeas nos diferentes grupos experimentais.

---

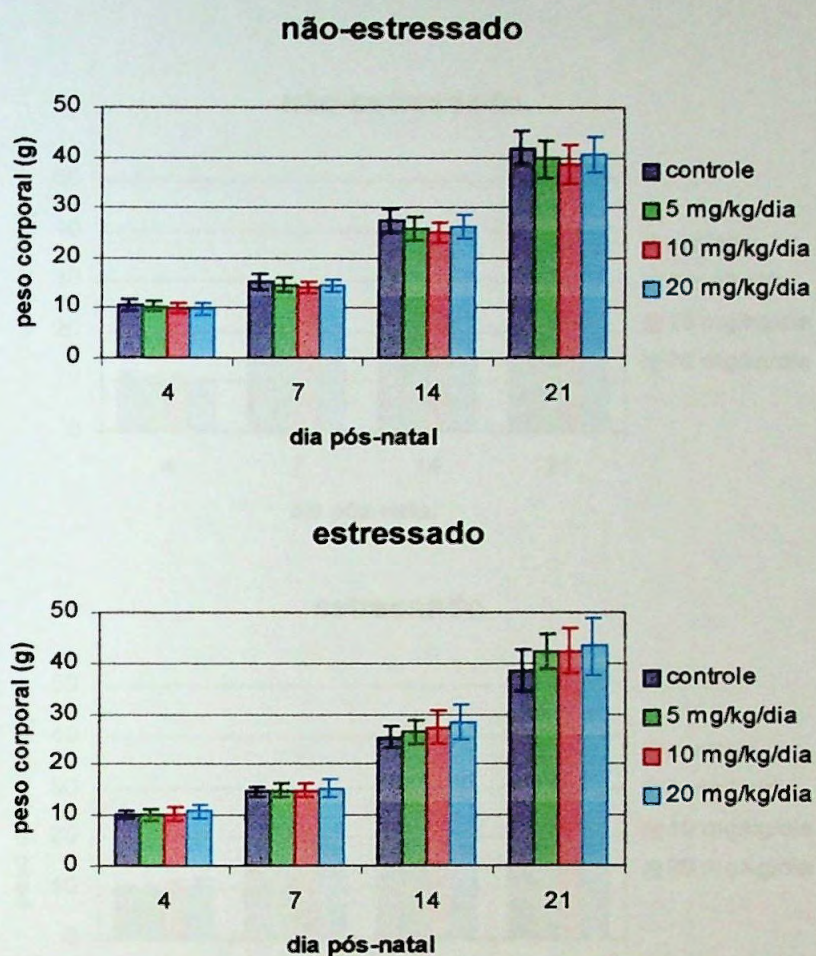


**Figura 14.** Peso corporal dos filhotes (gramas), antes da padronização, de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

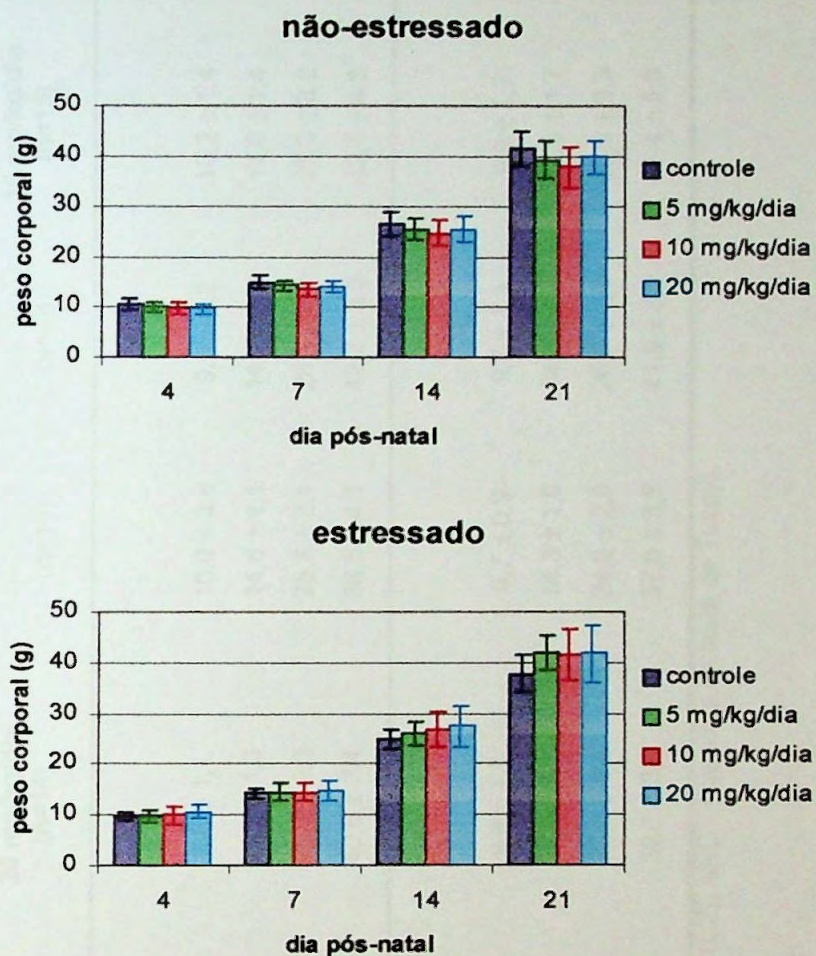
**Tabela 25.** Peso corporal dos filhotes (gramas), antes da padronização, de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|---------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|               | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| 0             | 6,5 ± 0,6                     | 6,4 ± 0,5                        | 6,4 ± 0,6                         | 6,1 ± 0,4                         | 6,4 ± 0,7                     | 6,3 ± 0,6                        | 6,4 ± 0,6                         | 6,4 ± 0,6                         |
| 4             | 10,5 ± 1,1                    | 10,0 ± 0,9                       | 10,0 ± 1,2                        | 9,7 ± 1,2                         | 9,7 ± 0,9                     | 9,9 ± 0,8                        | 10,1 ± 1,4                        | 10,6 ± 1,1                        |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , ANOVA).



**Figura 15.** Peso corporal dos filhotes machos (gramas) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.



**Figura 16.** Peso corporal dos filhotes fêmeas (gramas) de ratas durante o período de gestação dos grupos não-estressado e estressado que receberam, por gavagem, óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, nos dias 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

**Tabela 26.** Peso corporal dos filhotes (gramas) de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|---------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|               | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| <b>Machos</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| 4             | 10,6 ± 1,2                    | 10,2 ± 1,0                       | 9,9 ± 1,0                         | 9,8 ± 1,1                         | 10,0 ± 0,8                    | 9,9 ± 1,2                        | 10,2 ± 1,4                        | 10,8 ± 1,3                        |
| 7             | 15,2 ± 1,5                    | 14,6 ± 1,3                       | 13,9 ± 1,2                        | 14,5 ± 1,3                        | 14,6 ± 1,1                    | 14,8 ± 1,3                       | 14,8 ± 1,4                        | 15,1 ± 1,7                        |
| 14            | 27,2 ± 2,4                    | 25,9 ± 2,3                       | 25,0 ± 2,0                        | 26,2 ± 2,3                        | 25,3 ± 2,1                    | 26,4 ± 2,4                       | 27,3 ± 3,2                        | 28,2 ± 3,4 <sup>a</sup>           |
| 21            | 42,0 ± 3,3                    | 39,7 ± 3,8                       | 38,6 ± 3,9                        | 40,6 ± 3,4                        | 38,5 ± 4,1                    | 42,3 ± 3,5                       | 42,4 ± 4,5                        | 43,2 ± 5,7 <sup>a</sup>           |
| <b>Fêmeas</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| 4             | 10,5 ± 1,2                    | 10,0 ± 1,0                       | 9,8 ± 1,1                         | 9,6 ± 1,1                         | 9,7 ± 0,9                     | 9,7 ± 1,3                        | 9,9 ± 1,7                         | 10,6 ± 1,4                        |
| 7             | 15,0 ± 1,4                    | 14,3 ± 1,1                       | 13,6 ± 1,4                        | 14,2 ± 1,2                        | 14,3 ± 1,0                    | 14,5 ± 1,7                       | 14,5 ± 1,7                        | 14,9 ± 2,0                        |
| 14            | 26,6 ± 2,4                    | 25,4 ± 2,1                       | 24,7 ± 2,6                        | 25,6 ± 2,4                        | 24,8 ± 2,0                    | 26,0 ± 2,4                       | 26,6 ± 3,5                        | 27,3 ± 3,9                        |
| 21            | 41,4 ± 3,7                    | 39,3 ± 3,8                       | 37,7 ± 4,1                        | 39,7 ± 3,4                        | 37,8 ± 3,8                    | 41,9 ± 3,4                       | 41,4 ± 5,0                        | 41,7 ± 5,6                        |

<sup>a</sup> Significativamente diferente do grupo controle estressado ( $p < 0,05$ , ANOVA seguida do teste de Tukey).

#### **4.1.3.4 Avaliação Física e Maturidade Sexual**

Os dados referentes à avaliação física dos filhotes machos e fêmeas são apresentados na Tabela 27, assim como os dados de maturidade sexual são apresentados na Tabela 28.

Não foi verificada influência da exposição materna ao praguicida e ao estresse no dia do descolamento das orelhas, do aparecimento de pêlos, da erupção dos dentes incisivos, da abertura de olhos e nos dias de abertura vaginal e separação do prepúcio. O peso corporal dos filhotes na maturidade sexual foram similares nos diferentes grupos experimentais.

**Tabela 27.** Avaliação física dos filhotes (dia de ocorrência) de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|               | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|---------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|               | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| <b>Machos</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Orelhas       | 2,3 ± 0,6                     | 2,3 ± 0,5                        | 2,0 ± 0,6                         | 2,2 ± 0,7                         | 2,2 ± 0,5                     | 2,0 ± 0,6                        | 2,4 ± 0,6                         | 1,9 ± 0,5                         |
| Pêlo          | 7,1 ± 0,3                     | 6,9 ± 0,6                        | 7,0 ± 0,4                         | 7,3 ± 0,5                         | 7,0 ± 0,0                     | 7,1 ± 0,3                        | 7,1 ± 0,4                         | 7,1 ± 0,5                         |
| Incisivos     | 10,5 ± 1,2                    | 10,0 ± 0,8                       | 10,6 ± 0,9                        | 10,2 ± 1,0                        | 10,2 ± 0,8                    | 9,9 ± 1,0                        | 10,3 ± 1,2                        | 9,9 ± 1,2                         |
| Olhos         | 14,0 ± 1,1                    | 13,6 ± 1,2                       | 14,0 ± 0,6                        | 13,7 ± 1,0                        | 14,5 ± 0,8                    | 13,8 ± 1,3                       | 13,9 ± 0,9                        | 13,6 ± 0,7                        |
| <b>Fêmeas</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Orelhas       | 2,2 ± 0,6                     | 2,3 ± 0,6                        | 2,1 ± 0,7                         | 2,2 ± 0,7                         | 2,2 ± 0,6                     | 2,1 ± 0,6                        | 2,4 ± 0,6                         | 1,8 ± 0,5                         |
| Pêlo          | 7,1 ± 0,3                     | 6,9 ± 0,6                        | 7,0 ± 0,4                         | 7,1 ± 0,4                         | 7,0 ± 0,0                     | 7,0 ± 0,4                        | 7,1 ± 0,4                         | 7,1 ± 0,3                         |
| Incisivos     | 10,6 ± 1,1                    | 10,0 ± 0,8                       | 10,4 ± 1,0                        | 10,1 ± 0,8                        | 10,3 ± 0,6                    | 9,9 ± 1,1                        | 10,3 ± 1,2                        | 9,6 ± 1,1                         |
| Olhos         | 13,7 ± 1,3                    | 13,6 ± 1,2                       | 13,9 ± 0,5                        | 13,4 ± 1,1                        | 14,5 ± 0,9                    | 13,6 ± 1,2                       | 13,9 ± 0,9                        | 13,6 ± 0,7                        |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).



**Tabela 28.** Idade (dias) e peso corporal (gramas) na maturidade sexual de filhotes de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                         | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   |                               | Estressado                       |                                   |                                   |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                         | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| Separação do prepúcio   | 47,6 ± 1,9                    | 47,1 ± 1,2                       | 47,3 ± 1,9                        | 47,8 ± 3,1                        | 48,2 ± 2,7                    | 46,6 ± 1,5                       | 47,2 ± 1,9                        | 45,8 ± 3,4                        |
| Machos<br>peso corporal | 197, ± 16,0                   | 194,8 ± 11,2                     | 189,4 ± 11,5                      | 191,7 ± 9,2                       | 186,1 ± 10,0                  | 192,7 ± 12,5                     | 195,4 ± 13,7                      | 193,5 ± 11,9                      |
| Abertura vaginal        | 36,8 ± 2,0                    | 37,5 ± 2,8                       | 38,2 ± 2,2                        | 38,4 ± 4,0                        | 37,4 ± 1,6                    | 36,5 ± 0,9                       | 37,2 ± 1,9                        | 37,2 ± 2,6                        |
| Fêmeas<br>peso corporal | 114,6 ± 10,0                  | 117,4 ± 11,4                     | 116,0 ± 10,5                      | 119,6 ± 12,1                      | 113,6 ± 6,8                   | 120,0 ± 10,9                     | 120,7 ± 9,8                       | 118,2 ± 10,2                      |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

#### **4.1.3.5 Avaliação Reflexológica**

A tabela 29 apresenta os dados referentes à avaliação reflexológica dos filhotes. A análise estatística dos dados mostrou que não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais no dia de ocorrência dos reflexos de preensão palmar, de endireitamento postural e de geotaxia negativa.

**Tabela 29.** Avaliação reflexológica dos filhotes de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

|                         | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                         | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| <b>Machos</b>           |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Preensão Palmar         | 2,0 ± 0,0                     | 2,0 ± 0,0                        | 2,1 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,0                         | 2,0 ± 0,0                     | 2,1 ± 0,5                        | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,0                         |
| Endireitamento Postural | 2,0 ± 0,0                     | 2,0 ± 0,0                        | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,0                     | 2,1 ± 0,3                        | 2,0 ± 0,0                         | 2,0 ± 0,0                         |
| Geotaxia Negativa       | 7,3 ± 0,4                     | 7,5 ± 0,6                        | 7,5 ± 0,5                         | 7,4 ± 0,1                         | 7,6 ± 0,6                     | 7,3 ± 0,4                        | 7,5 ± 0,5                         | 7,3 ± 0,4                         |
| <b>Fêmeas</b>           |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| Preensão Palmar         | 2,0 ± 0,1                     | 2,0 ± 0,1                        | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,0                     | 2,0 ± 0,1                        | 2,1 ± 0,2                         | 2,0 ± 0,0                         |
| Endireitamento Postural | 2,0 ± 0,0                     | 2,0 ± 0,2                        | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,1                         | 2,0 ± 0,0                     | 2,0 ± 0,1                        | 2,0 ± 0,0                         | 2,0 ± 0,1                         |
| Geotaxia Negativa       | 7,3 ± 0,4                     | 7,4 ± 0,4                        | 7,3 ± 0,4                         | 7,5 ± 0,4                         | 7,5 ± 0,6                     | 7,3 ± 0,4                        | 7,5 ± 0,7                         | 7,3 ± 0,4                         |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

#### **4.1.3.6 Atividade Motora**

As tabelas 30 a 35 mostram os dados referentes à atividade motora espontânea da prole de ratas estressadas e não-estressadas e que receberam dicofol ou óleo de milho nos dias 14 a 20 de gestação.

Não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos nos parâmetros de locomoção, levantar, frequência e tempo de limpeza, tempo de imobilidade e defecação, não havendo efeito do dicofol, do estresse e nem da interação destes fatores.

**Tabela 30.** Frequência de locomoção dos filhotes de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia ou óleo de milho, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado          |                            |                             |                             | Estressado              |                            |                             |                             |
|---------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|               | Grupo 1 Controle (n=14) | Grupo 2 5 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 3 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 4 20 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 5 Controle (n=14) | Grupo 6 5 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 7 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 8 20 mg/kg/dia (n=14) |
| <b>Machos</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |
| 14            | 30,6 ± 22,6             | 23,8 ± 18,6                | 17,5 ± 9,7                  | 40,8 ± 15,3                 | 24,1 ± 3,69             | 20,7 ± 11,3                | 22,7 ± 16,1                 | 18,5 ± 13,4                 |
| 15            | 30,9 ± 22,2             | 30,0 ± 21,4                | 27,8 ± 27,2                 | 36,0 ± 24,5                 | 24,2 ± 23,6             | 33,6 ± 21,9                | 39,1 ± 28,3                 | 38,3 ± 27,6                 |
| 16            | 37,1 ± 21,1             | 40,7 ± 24,7                | 37,3 ± 24,5                 | 33,2 ± 22,6                 | 29,9 ± 15,6             | 30,4 ± 23,6                | 31,8 ± 23,6                 | 26,3 ± 13,7                 |
| 17            | 28,3 ± 15,3             | 40,3 ± 23,8                | 28,5 ± 20,1                 | 40,4 ± 15,9                 | 32,6 ± 22,3             | 30,7 ± 16,1                | 24,4 ± 12,0                 | 26,5 ± 16,8                 |
| 18            | 37,6 ± 24,3             | 27,8 ± 18,4                | 27,1 ± 18,1                 | 24,7 ± 11,9                 | 30,8 ± 20,3             | 29,7 ± 20,6                | 24,1 ± 11,1                 | 20,5 ± 10,7                 |
| 19            | 34,0 ± 17,9             | 30,2 ± 12,0                | 20,9 ± 12,3                 | 29,1 ± 14,0                 | 21,1 ± 10,1             | 31,1 ± 9,1                 | 22,1 ± 10,4                 | 22,8 ± 11,4                 |
| 20            | 48,9 ± 26,3             | 35,3 ± 15,4                | 39,2 ± 19,8                 | 39,9 ± 16,2                 | 37,0 ± 19,9             | 42,5 ± 26,8                | 38,8 ± 18,5                 | 38,8 ± 17,0                 |
| 21            | 42,7 ± 22,9             | 42,2 ± 11,0                | 37,0 ± 18,0                 | 39,8 ± 18,0                 | 45,8 ± 26,4             | 39,4 ± 14,9                | 48,2 ± 23,3                 | 48,6 ± 21,3                 |
| <b>Fêmeas</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |
| 14            | 25,3 ± 10,4             | 22,8 ± 13,1                | 17,2 ± 8,1                  | 29,0 ± 15,9                 | 30,0 ± 18,2             | 24,3 ± 8,9                 | 31,4 ± 17,0                 | 22,8 ± 12,2                 |
| 15            | 38,8 ± 19,0             | 26,2 ± 23,1                | 26,8 ± 16,9                 | 44,3 ± 4,2                  | 35,1 ± 15,5             | 23,1 ± 8,3                 | 42,9 ± 33,7                 | 37,4 ± 13,5                 |
| 16            | 49,5 ± 18,9             | 23,1 ± 13,4                | 26,2 ± 17,7                 | 57,3 ± 21,6                 | 34,6 ± 18,4             | 30,8 ± 17,7                | 35,7 ± 23,2                 | 36,4 ± 17,4                 |
| 17            | 38,8 ± 21,5             | 26,8 ± 10,5                | 33,5 ± 23,7                 | 42,3 ± 23,0                 | 29,8 ± 16,8             | 25,1 ± 16,3                | 30,4 ± 22,2                 | 39,7 ± 23,0                 |
| 18            | 41,3 ± 25,6             | 26,2 ± 20,4                | 18,7 ± 7,5                  | 25,1 ± 8,9                  | 26,5 ± 14,6             | 24,7 ± 15,3                | 37,0 ± 19,1                 | 22,8 ± 13,6                 |
| 19            | 23,2 ± 12,0             | 30,2 ± 19,5                | 20,8 ± 13,9                 | 23,5 ± 15,2                 | 23,4 ± 14,0             | 20,2 ± 9,4                 | 26,1 ± 18,6                 | 30,9 ± 16,9                 |
| 20            | 37,7 ± 23,3             | 27,5 ± 16,9                | 28,7 ± 16,5                 | 26,8 ± 12,7                 | 34,1 ± 17,3             | 22,4 ± 11,5                | 32,1 ± 27,4                 | 37,4 ± 19,5                 |
| 21            | 48,1 ± 24,3             | 40,3 ± 27,4                | 23,8 ± 15,1                 | 43,6 ± 26,5                 | 34,7 ± 12,3             | 23,8 ± 8,8                 | 45,0 ± 28,6                 | 43,9 ± 19,5                 |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 31.** Frequência de levantar dos filhotes de ratas Wistar dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado          |                            |                             |                             | Estressado            |                            |                             |                             |
|---------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|               | Grupo 1 Controle (n=14) | Grupo 2 5 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 3 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 4 20 mg/kg/dia (n=14) | Grupo Controle (n=14) | Grupo 5 5 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 7 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 8 20 mg/kg/dia (n=14) |
| <b>Machos</b> |                         |                            |                             |                             |                       |                            |                             |                             |
| 14            | 4,0 ± 4,2               | 2,2 ± 2,0                  | 2,2 ± 1,5                   | 2,8 ± 2,1                   | 3,3 ± 3,1             | 3,0 ± 2,9                  | 4,3 ± 4,0                   | 1,9 ± 1,8                   |
| 15            | 4,0 ± 2,5               | 3,5 ± 3,5                  | 3,8 ± 4,0                   | 2,8 ± 2,9                   | 3,3 ± 4,1             | 4,1 ± 2,2                  | 4,2 ± 3,9                   | 4,1 ± 2,5                   |
| 16            | 6,0 ± 4,3               | 3,0 ± 2,1                  | 6,8 ± 6,1                   | 4,5 ± 4,3                   | 2,8 ± 1,8             | 2,9 ± 2,2                  | 4,9 ± 5,6                   | 2,7 ± 1,9                   |
| 17            | 4,2 ± 5,1               | 5,2 ± 3,2                  | 4,2 ± 2,8                   | 6,0 ± 3,4                   | 4,9 ± 3,8             | 3,8 ± 1,8                  | 2,8 ± 1,7                   | 4,2 ± 2,4                   |
| 18            | 6,9 ± 5,4               | 3,9 ± 2,4                  | 2,4 ± 2,1                   | 3,4 ± 2,0                   | 4,8 ± 3,4             | 3,6 ± 2,1                  | 4,1 ± 2,1                   | 2,6 ± 1,9                   |
| 19            | 6,5 ± 3,8               | 3,9 ± 2,7                  | 3,7 ± 4,3                   | 4,6 ± 4,6                   | 3,5 ± 1,8             | 6,1 ± 3,6                  | 3,3 ± 3,2                   | 3,3 ± 2,7                   |
| 20            | 12,0 ± 8,1              | 5,8 ± 3,5                  | 7,6 ± 5,8                   | 6,7 ± 3,9                   | 8,5 ± 4,1             | 15,8 ± 13,8                | 7,2 ± 6,4                   | 5,2 ± 3,7                   |
| 21            | 13,5 ± 9,5              | 12,0 ± 8,6                 | 10,8 ± 7,7                  | 8,8 ± 7,3                   | 14,5 ± 10,3           | 10,8 ± 6,6                 | 10,7 ± 6,6                  | 10,3 ± 6,6                  |
| <b>Fêmeas</b> |                         |                            |                             |                             |                       |                            |                             |                             |
| 14            | 4,3 ± 3,7               | 3,8 ± 2,7                  | 2,6 ± 2,4                   | 4,6 ± 4,0                   | 3,0 ± 2,7             | 3,5 ± 3,1                  | 3,8 ± 2,7                   | 4,7 ± 3,9                   |
| 15            | 5,2 ± 2,4               | 3,0 ± 2,6                  | 2,8 ± 1,6                   | 4,6 ± 2,2                   | 3,6 ± 1,8             | 3,7 ± 1,8                  | 3,8 ± 3,7                   | 4,7 ± 3,6                   |
| 16            | 8,0 ± 5,3               | 2,1 ± 1,9                  | 3,2 ± 3,3                   | 5,3 ± 2,7                   | 4,8 ± 2,9             | 4,3 ± 2,6                  | 5,0 ± 3,8                   | 5,0 ± 3,1                   |
| 17            | 5,5 ± 3,2               | 3,2 ± 2,2                  | 4,3 ± 3,4                   | 4,3 ± 4,2                   | 5,5 ± 4,4             | 3,8 ± 2,9                  | 3,7 ± 1,9                   | 5,5 ± 3,7                   |
| 18            | 6,5 ± 4,8               | 3,1 ± 3,3                  | 2,0 ± 1,2                   | 2,3 ± 1,7                   | 3,6 ± 2,4             | 3,3 ± 3,5                  | 4,9 ± 3,4                   | 3,7 ± 3,0                   |
| 19            | 3,0 ± 2,3               | 2,5 ± 3,2                  | 2,9 ± 2,8                   | 2,3 ± 2,7                   | 2,7 ± 3,1             | 3,4 ± 3,2                  | 4,2 ± 3,7                   | 3,1 ± 2,4                   |
| 20            | 5,8 ± 4,5               | 4,3 ± 3,0                  | 4,7 ± 4,9                   | 4,5 ± 4,7                   | 9,1 ± 4,6             | 5,1 ± 5,3                  | 7,8 ± 8,8                   | 4,1 ± 3,5                   |
| 21            | 13,4 ± 7,8              | 8,8 ± 8,2                  | 5,4 ± 4,9                   | 10,8 ± 7,1                  | 10,8 ± 8,7            | 5,3 ± 3,5                  | 11,4 ± 8,7                  | 10,2 ± 5,8                  |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 32.** Duração de imobilidade (segundos) dos filhotes de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado          |                            |                             |                             |                         | Estressado                 |                             |                             |  |  |
|---------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--|--|
|               | Grupo 1 Controle (n=14) | Grupo 2 5 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 3 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 4 20 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 5 Controle (n=14) | Grupo 6 5 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 7 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 8 20 mg/kg/dia (n=14) |  |  |
| <b>Machos</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |  |  |
| 14            | 18,6 ± 29,4             | 12,9 ± 12,7                | 14,5 ± 13,3                 | 12,5 ± 12,1                 | 11,6 ± 16,1             | 18,3 ± 12,7                | 24,6 ± 29,8                 | 14,4 ± 11,5                 |  |  |
| 15            | 19,9 ± 16,2             | 13,7 ± 11,8                | 18,8 ± 16,1                 | 16,5 ± 10,6                 | 17,5 ± 14,2             | 21,2 ± 20,4                | 21,8 ± 23,3                 | 17,3 ± 14,8                 |  |  |
| 16            | 14,1 ± 6,8              | 10,8 ± 9,0                 | 16,8 ± 13,9                 | 17,6 ± 12,6                 | 18,9 ± 12,4             | 21,9 ± 20,5                | 16,7 ± 13,9                 | 18,1 ± 10,3                 |  |  |
| 17            | 14,3 ± 13,1             | 20,7 ± 26,3                | 25,2 ± 19,9                 | 16,9 ± 10,8                 | 17,7 ± 16,6             | 25,6 ± 16,5                | 30,2 ± 22,8                 | 30,8 ± 24,9                 |  |  |
| 18            | 25,2 ± 26,8             | 23,6 ± 20,0                | 31,6 ± 34,8                 | 38,2 ± 23,0                 | 23,2 ± 16,3             | 31,2 ± 23,4                | 30,8 ± 19,8                 | 47,0 ± 27,7                 |  |  |
| 19            | 16,9 ± 15,3             | 22,1 ± 19,2                | 43,9 ± 29,7                 | 26,4 ± 29,4                 | 29,8 ± 17,6             | 20,8 ± 20,7                | 33,3 ± 15,4                 | 41,2 ± 41,4                 |  |  |
| 20            | 12,1 ± 18,1             | 18,4 ± 12,9                | 27,6 ± 28,7                 | 18,5 ± 23,8                 | 15,0 ± 14,8             | 17,7 ± 24,0                | 20,1 ± 18,9                 | 30,0 ± 32,1                 |  |  |
| 21            | 21,2 ± 33,2             | 21,2 ± 22,5                | 18,5 ± 21,4                 | 24,7 ± 19,1                 | 13,3 ± 15,7             | 18,8 ± 25,2                | 10,8 ± 13,8                 | 16,1 ± 29,0                 |  |  |
| <b>Fêmeas</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |  |  |
| 14            | 10,7 ± 11,0             | 10,8 ± 11,5                | 11,4 ± 9,5                  | 7,5 ± 6,3                   | 13,9 ± 12,3             | 11,7 ± 12,7                | 15,9 ± 16,2                 | 9,4 ± 7,0                   |  |  |
| 15            | 10,6 ± 9,9              | 18,0 ± 13,0                | 17,3 ± 19,8                 | 12,6 ± 14,7                 | 18,6 ± 14,4             | 14,9 ± 12,4                | 10,5 ± 9,0                  | 8,5 ± 10,7                  |  |  |
| 16            | 4,8 ± 3,7               | 16,7 ± 12,1                | 19,1 ± 9,6                  | 7,5 ± 7,8                   | 15,1 ± 16,7             | 10,2 ± 11,0                | 20,0 ± 17,3                 | 12,4 ± 9,3                  |  |  |
| 17            | 8,8 ± 7,3               | 19,0 ± 17,9                | 24,2 ± 25,4                 | 14,9 ± 10,2                 | 18,2 ± 13,4             | 27,3 ± 25,3                | 16,5 ± 16,8                 | 15,8 ± 14,5                 |  |  |
| 18            | 11,3 ± 13,3             | 32,8 ± 34,2                | 27,9 ± 20,5                 | 27,8 ± 21,3                 | 35,0 ± 32,9             | 23,8 ± 23,1                | 29,1 ± 21,3                 | 18,6 ± 18,7                 |  |  |
| 19            | 21,9 ± 15,8             | 29,5 ± 24,3                | 35,5 ± 18,3                 | 44,3 ± 41,7                 | 32,1 ± 25,1             | 37,3 ± 28,8                | 46,3 ± 23,8                 | 20,5 ± 18,7                 |  |  |
| 20            | 12,4 ± 17,1             | 33,9 ± 28,5                | 29,4 ± 30,9                 | 34,1 ± 30,0                 | 13,4 ± 22,5             | 20,7 ± 16,9                | 23,3 ± 33,3                 | 33,7 ± 17,4                 |  |  |
| 21            | 6,3 ± 7,1               | 21,9 ± 23,2                | 31,5 ± 32,2                 | 22,3 ± 28,3                 | 16,4 ± 18,9             | 30,4 ± 21,0                | 22,8 ± 24,3                 | 10,9 ± 13,9                 |  |  |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 33.** Frequência de limpeza dos filhotes de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia ou óleo de milho, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado                |                                  |                                   |                                   | Estressado                    |                                  |                                   |                                   |
|---------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|               | Grupo 1<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 2<br>5 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 3<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 4<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 5<br>Controle<br>(n=14) | Grupo 6<br>5 mg/kg/dia<br>(n=14) | Grupo 7<br>10 mg/kg/dia<br>(n=15) | Grupo 8<br>20 mg/kg/dia<br>(n=14) |
| <b>Machos</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| 14            | 0,3 ± 0,6                     | 0,8 ± 1,3                        | 1,6 ± 1,6                         | 1,9 ± 1,5                         | 1,2 ± 1,1                     | 2,7 ± 1,8                        | 2,5 ± 2,1                         | 1,9 ± 1,8                         |
| 15            | 2,2 ± 1,7                     | 3,3 ± 1,8                        | 2,2 ± 1,4                         | 3,5 ± 2,0                         | 2,2 ± 1,8                     | 4,6 ± 3,0                        | 2,7 ± 2,1                         | 2,4 ± 1,8                         |
| 16            | 4,4 ± 1,9                     | 4,5 ± 2,5                        | 3,2 ± 2,5                         | 6,1 ± 3,3                         | 3,0 ± 2,1                     | 3,6 ± 2,8                        | 3,1 ± 2,7                         | 3,9 ± 1,8                         |
| 17            | 4,9 ± 3,4                     | 4,5 ± 1,6                        | 4,4 ± 2,4                         | 6,8 ± 3,5                         | 5,5 ± 2,7                     | 4,2 ± 4,1                        | 4,5 ± 2,5                         | 6,5 ± 4,8                         |
| 18            | 5,7 ± 3,4                     | 3,6 ± 3,5                        | 4,2 ± 2,6                         | 5,9 ± 3,6                         | 5,8 ± 2,7                     | 3,4 ± 3,1                        | 6,3 ± 3,5                         | 7,3 ± 4,0                         |
| 19            | 6,5 ± 3,8                     | 5,4 ± 2,3                        | 4,2 ± 3,7                         | 5,4 ± 4,8                         | 6,5 ± 3,5                     | 5,8 ± 3,3                        | 6,0 ± 4,9                         | 6,4 ± 3,5                         |
| 20            | 4,6 ± 2,9                     | 4,3 ± 2,7                        | 5,0 ± 4,9                         | 6,8 ± 3,8                         | 7,6 ± 3,8                     | 7,5 ± 3,9                        | 4,8 ± 2,7                         | 5,8 ± 3,0                         |
| 21            | 5,9 ± 2,9                     | 5,7 ± 2,9                        | 6,0 ± 4,6                         | 4,3 ± 1,9                         | 5,7 ± 4,0                     | 6,5 ± 2,7                        | 6,8 ± 2,8                         | 6,8 ± 4,0                         |
| <b>Fêmeas</b> |                               |                                  |                                   |                                   |                               |                                  |                                   |                                   |
| 14            | 1,9 ± 2,2                     | 1,4 ± 2,3                        | 2,3 ± 2,9                         | 1,3 ± 1,4                         | 2,2 ± 1,6                     | 3,8 ± 1,6                        | 3,3 ± 3,3                         | 3,7 ± 1,6                         |
| 15            | 3,1 ± 2,2                     | 4,1 ± 2,6                        | 2,9 ± 1,9                         | 4,1 ± 2,7                         | 4,0 ± 2,2                     | 4,3 ± 2,1                        | 3,4 ± 2,2                         | 4,2 ± 0,9                         |
| 16            | 4,8 ± 2,6                     | 4,7 ± 4,4                        | 3,7 ± 2,2                         | 4,7 ± 3,5                         | 3,7 ± 2,1                     | 3,0 ± 2,0                        | 5,2 ± 2,9                         | 5,2 ± 3,3                         |
| 17            | 5,1 ± 2,3                     | 4,6 ± 2,5                        | 3,6 ± 2,3                         | 3,3 ± 1,7                         | 5,9 ± 1,9                     | 4,3 ± 2,6                        | 4,3 ± 3,4                         | 6,4 ± 3,2                         |
| 18            | 6,6 ± 4,0                     | 4,2 ± 3,1                        | 5,4 ± 2,3                         | 4,3 ± 2,1                         | 6,8 ± 2,6                     | 3,3 ± 3,0                        | 6,3 ± 3,2                         | 5,4 ± 3,4                         |
| 19            | 7,8 ± 5,1                     | 5,3 ± 3,7                        | 5,4 ± 2,4                         | 3,0 ± 2,4                         | 4,9 ± 4,1                     | 4,4 ± 2,9                        | 4,9 ± 2,8                         | 5,3 ± 4,6                         |
| 20            | 5,1 ± 2,9                     | 4,2 ± 2,8                        | 4,3 ± 3,0                         | 5,3 ± 3,2                         | 7,5 ± 3,7                     | 5,6 ± 5,5                        | 4,8 ± 3,7                         | 4,4 ± 3,7                         |
| 21            | 6,2 ± 5,3                     | 5,7 ± 4,4                        | 4,3 ± 3,6                         | 4,5 ± 3,8                         | 5,9 ± 2,2                     | 4,9 ± 2,6                        | 5,4 ± 3,4                         | 6,3 ± 4,2                         |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).



**Tabela 34.** Duração de limpeza (segundos) dos filhotes de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado          |                            |                             |                             |                         | Estressado                 |                             |                             |  |  |
|---------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--|--|
|               | Grupo 1 Controle (n=14) | Grupo 2 5 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 3 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 4 20 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 5 Controle (n=14) | Grupo 6 5 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 7 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 8 20 mg/kg/dia (n=14) |  |  |
| <b>Machos</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |  |  |
| 14            | 2,8 ± 2,5               | 3,6 ± 3,5                  | 5,7 ± 5,0                   | 4,8 ± 1,5                   | 3,4 ± 2,6               | 5,6 ± 3,2                  | 6,2 ± 4,4                   | 5,0 ± 2,3                   |  |  |
| 15            | 5,0 ± 3,3               | 6,0 ± 2,6                  | 6,3 ± 3,0                   | 8,6 ± 4,4                   | 4,8 ± 2,9               | 6,6 ± 4,0                  | 5,3 ± 3,1                   | 4,8 ± 2,5                   |  |  |
| 16            | 9,3 ± 3,5               | 8,2 ± 4,2                  | 9,0 ± 4,8                   | 11,2 ± 5,3                  | 5,2 ± 2,1               | 7,3 ± 4,1                  | 7,2 ± 5,3                   | 7,2 ± 3,4                   |  |  |
| 17            | 9,3 ± 5,3               | 8,2 ± 2,6                  | 9,4 ± 5,4                   | 12,4 ± 5,6                  | 8,8 ± 4,7               | 8,1 ± 6,8                  | 8,5 ± 4,1                   | 10,4 ± 7,0                  |  |  |
| 18            | 12,3 ± 6,0              | 10,5 ± 7,3                 | 7,5 ± 4,4                   | 9,8 ± 4,2                   | 9,9 ± 5,6               | 6,4 ± 4,8                  | 11,0 ± 3,3                  | 13,0 ± 7,9                  |  |  |
| 19            | 10,0 ± 4,6              | 11,2 ± 4,6                 | 10,5 ± 6,5                  | 9,8 ± 6,6                   | 11,4 ± 6,9              | 11,6 ± 6,5                 | 9,4 ± 6,6                   | 10,9 ± 6,3                  |  |  |
| 20            | 6,9 ± 4,5               | 9,8 ± 5,1                  | 7,6 ± 7,2                   | 11,3 ± 4,8                  | 12,1 ± 5,7              | 10,3 ± 5,3                 | 11,2 ± 4,5                  | 9,9 ± 6,1                   |  |  |
| 21            | 7,5 ± 6,2               | 9,6 ± 5,9                  | 10,1 ± 6,5                  | 6,4 ± 3,9                   | 8,0 ± 5,0               | 10,2 ± 3,9                 | 10,4 ± 4,3                  | 10,0 ± 7,4                  |  |  |
| <b>Fêmeas</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |  |  |
| 14            | 4,6 ± 2,7               | 3,7 ± 2,7                  | 5,4 ± 4,5                   | 3,8 ± 1,9                   | 5,1 ± 3,4               | 5,7 ± 2,2                  | 7,7 ± 4,2                   | 6,5 ± 3,7                   |  |  |
| 15            | 5,8 ± 2,5               | 7,2 ± 3,8                  | 6,6 ± 1,8                   | 6,6 ± 3,4                   | 7,2 ± 2,8               | 7,3 ± 2,2                  | 6,9 ± 3,5                   | 7,2 ± 2,2                   |  |  |
| 16            | 7,8 ± 2,7               | 8,6 ± 3,7                  | 9,8 ± 2,7                   | 7,3 ± 3,7                   | 8,9 ± 4,9               | 7,5 ± 3,7                  | 9,8 ± 4,5                   | 11,4 ± 4,2                  |  |  |
| 17            | 8,5 ± 3,1               | 9,1 ± 3,2                  | 6,3 ± 2,7                   | 6,3 ± 2,4                   | 10,8 ± 4,6              | 7,3 ± 4,2                  | 10,8 ± 6,9                  | 10,9 ± 5,3                  |  |  |
| 18            | 11,8 ± 4,8              | 10,8 ± 8,8                 | 9,5 ± 5,3                   | 8,8 ± 4,7                   | 12,3 ± 4,7              | 6,8 ± 5,4                  | 11,2 ± 5,9                  | 10,9 ± 4,8                  |  |  |
| 19            | 13,3 ± 7,9              | 10,8 ± 8,7                 | 11,5 ± 5,3                  | 6,4 ± 4,2                   | 10,0 ± 8,3              | 9,1 ± 4,8                  | 10,6 ± 6,8                  | 10,5 ± 5,8                  |  |  |
| 20            | 12,3 ± 6,7              | 8,3 ± 4,7                  | 8,2 ± 5,7                   | 10,0 ± 5,0                  | 13,7 ± 4,3              | 11,0 ± 4,8                 | 12,2 ± 5,3                  | 7,3 ± 3,9                   |  |  |
| 21            | 8,5 ± 5,7               | 10,8 ± 8,1                 | 9,8 ± 4,2                   | 7,9 ± 5,7                   | 8,9 ± 4,5               | 10,5 ± 6,6                 | 10,0 ± 7,7                  | 11,3 ± 5,6                  |  |  |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

**Tabela 35.** Frequência de defecação dos filhotes de ratas *Wistar* dos grupos não-estressados e estressados, que receberam óleo de milho (controle) ou dicofol nas doses de 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, do dia 14 a 20 de gestação. São apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão.

| Dia pós-natal | Não-Estressado          |                            |                             |                             |                         | Estressado                 |                             |                             |  |  |
|---------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--|--|
|               | Grupo 1 Controle (n=14) | Grupo 2 5 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 3 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 4 20 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 5 Controle (n=14) | Grupo 6 5 mg/kg/dia (n=14) | Grupo 7 10 mg/kg/dia (n=15) | Grupo 8 20 mg/kg/dia (n=14) |  |  |
| <b>Machos</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |  |  |
| 14            | 0,0 ± 0,0               | 0,1 ± 0,4                  | 0,0 ± 0,0                   | 0,2 ± 0,4                   | 0,2 ± 0,6               | 0,2 ± 0,6                  | 0,3 ± 0,6                   | 0,3 ± 0,9                   |  |  |
| 15            | 0,2 ± 0,6               | 0,2 ± 0,4                  | 0,3 ± 0,6                   | 0,1 ± 0,3                   | 0,2 ± 0,6               | 0,2 ± 0,4                  | 0,0 ± 0,0                   | 0,1 ± 0,4                   |  |  |
| 16            | 0,6 ± 1,4               | 0,5 ± 0,9                  | 0,3 ± 0,8                   | 0,3 ± 0,6                   | 0,3 ± 0,5               | 0,0 ± 0,0                  | 0,1 ± 0,3                   | 0,0 ± 0,0                   |  |  |
| 17            | 0,6 ± 1,0               | 0,8 ± 1,2                  | 0,8 ± 0,9                   | 0,4 ± 0,6                   | 0,5 ± 0,8               | 0,1 ± 0,4                  | 0,4 ± 1,1                   | 0,6 ± 1,4                   |  |  |
| 18            | 0,7 ± 0,8               | 0,9 ± 1,3                  | 0,5 ± 1,1                   | 0,9 ± 0,9                   | 0,5 ± 0,7               | 0,6 ± 0,9                  | 0,5 ± 1,0                   | 0,2 ± 0,4                   |  |  |
| 19            | 0,9 ± 1,0               | 1,7 ± 1,6                  | 1,3 ± 1,2                   | 0,7 ± 1,0                   | 1,1 ± 1,4               | 1,2 ± 1,2                  | 0,9 ± 1,1                   | 0,6 ± 1,0                   |  |  |
| 20            | 0,9 ± 1,0               | 1,8 ± 1,1                  | 1,2 ± 1,1                   | 1,1 ± 1,2                   | 1,5 ± 1,3               | 1,9 ± 1,5                  | 0,8 ± 1,1                   | 1,1 ± 1,1                   |  |  |
| 21            | 1,5 ± 1,3               | 1,2 ± 1,3                  | 1,7 ± 1,5                   | 1,5 ± 1,2                   | 1,8 ± 1,4               | 2,4 ± 1,7                  | 1,3 ± 1,3                   | 1,9 ± 1,8                   |  |  |
| <b>Fêmeas</b> |                         |                            |                             |                             |                         |                            |                             |                             |  |  |
| 14            | 0,1 ± 0,5               | 0,1 ± 0,4                  | 0,3 ± 0,8                   | 0,4 ± 0,5                   | 0,3 ± 0,5               | 0,1 ± 0,3                  | 0,1 ± 0,4                   | 0,1 ± 0,3                   |  |  |
| 15            | 0,2 ± 0,4               | 0,5 ± 0,7                  | 0,1 ± 0,3                   | 0,3 ± 0,6                   | 0,3 ± 0,5               | 0,6 ± 0,9                  | 0,2 ± 0,4                   | 0,1 ± 0,3                   |  |  |
| 16            | 0,4 ± 0,8               | 0,3 ± 0,6                  | 0,2 ± 0,4                   | 0,2 ± 0,4                   | 0,4 ± 0,9               | 0,3 ± 0,5                  | 0,5 ± 0,9                   | 0,2 ± 0,4                   |  |  |
| 17            | 1,0 ± 1,3               | 0,5 ± 0,8                  | 0,7 ± 1,5                   | 0,4 ± 0,8                   | 0,5 ± 0,7               | 1,1 ± 1,6                  | 0,5 ± 0,9                   | 0,5 ± 0,9                   |  |  |
| 18            | 0,7 ± 1,0               | 0,9 ± 1,1                  | 0,6 ± 0,8                   | 1,1 ± 1,3                   | 0,9 ± 1,1               | 1,5 ± 1,2                  | 1,4 ± 1,4                   | 0,2 ± 0,4                   |  |  |
| 19            | 0,9 ± 1,3               | 1,1 ± 1,6                  | 1,1 ± 1,5                   | 1,3 ± 1,4                   | 0,8 ± 1,0               | 1,4 ± 1,1                  | 1,4 ± 1,6                   | 0,6 ± 1,0                   |  |  |
| 20            | 0,9 ± 1,2               | 1,4 ± 1,2                  | 1,9 ± 1,7                   | 1,9 ± 1,4                   | 0,5 ± 0,7               | 2,2 ± 1,3                  | 1,1 ± 1,0                   | 0,5 ± 0,9                   |  |  |
| 21            | 2,0 ± 1,5               | 1,5 ± 1,3                  | 1,7 ± 2,1                   | 1,0 ± 1,4                   | 1,5 ± 1,8               | 1,9 ± 1,4                  | 1,6 ± 1,4                   | 1,2 ± 1,7                   |  |  |

Não houve diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ , Teste de Kruskal-Wallis).

## 5. DISCUSSÃO

Dentre os agentes químicos, os praguicidas são considerados singulares pelo fato de serem introduzidos intencionalmente no meio ambiente para matar ou controlar formas de vida consideradas nocivas à saúde humana (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2001).

Entretanto, evidências científicas indicam que a exposição a esses agentes pode resultar em efeitos adversos sobre a reprodução de diferentes espécies animais, interferindo na capacidade e na habilidade reprodutiva de organismos adultos ou no desenvolvimento do concepto, caso a exposição ocorra durante o período de gestação. Durante a gestação, dependendo do período em que ocorrer a exposição materna a esses agentes, os efeitos no concepto podem resultar em morte pré-natal, anormalidades estruturais, retardo de crescimento e deficiências funcionais, incluindo alterações no desenvolvimento pós-natal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; IYER, 2001).

Estudos conduzidos em animais de laboratório, de acordo com protocolos experimentais padronizados, demonstram que o praguicida dicofol, objeto deste estudo, não apresenta efeitos teratogênicos ou embriofetotóxicos após exposição à dose de 25 mg/kg/dia dos dias 6 a 15 de gestação de ratos. Por outro lado, a administração de dicofol através da dieta a duas gerações de ratos e em doses acima de 2 mg/kg/dia resultou, em efeitos adversos no fígado, glândulas adrenais e rins dos animais adultos, e nas doses de 10 e 21 mg/kg/dia influenciou no desenvolvimento dos filhotes reduzindo também o número de filhotes viáveis durante o período de lactação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Nos estudos de avaliação do potencial de toxicidade sobre o desenvolvimento embriofetal de animais de laboratório, fatores ambientais e maternos são bem controlados, utilizando-se animais saudáveis provenientes de populações geneticamente bem-definidas e padronizando-se as condições ambientais onde são conduzidos os estudos. Entretanto, no cotidiano, a exposição a um praguicida pode ocorrer simultaneamente a outros fatores que podem vir a modificar sua toxicidade.

Assim sendo, optamos por trabalhar com o estresse materno pré-natal como um fator agregado que, ocorrendo frequentemente em mulheres gestantes, poderia vir a modificar a toxicidade de doses de dicofol insuficientes para causar toxicidade materna e/ou embriofetal.

A avaliação do estresse materno durante o período gestacional é particularmente importante devido aos possíveis efeitos que pode causar no organismo em desenvolvimento, incluindo consequências deletérias na morfologia, na fisiologia, na imunologia e no comportamento durante o período neonatal e na idade adulta (WILLIAMS et al, 1999).

Dados epidemiológicos demonstram haver uma correlação positiva entre o estresse materno e efeitos adversos no desenvolvimento embriofetal tais como abortos, dificuldades no parto, neonatos com baixo peso ao nascimento, alta porcentagem de patologias neonatais e anormalidades comportamentais a longo-prazo (STOTT, 1973; PATIN et al, 2002).

Também em animais de laboratório, a exposição materna a diferentes agentes estressogênicos aplicados durante o período de gestação resulta no aumento da incidência de abortos, na diminuição do número e do tamanho das ninhadas, na alta taxa de mortalidade dos neonatos, na redução do peso corporal ao nascimento, além de retardos no desenvolvimento. Além destas alterações, o estresse pré-natal acarreta também efeitos a longo-prazo que se manifestam no indivíduo adulto e envolvem hiperatividade, aumento da emocionalidade, deficiências cognitivas e anormalidades neurológicas e comportamentais (PATIN et al, 2002).

Os efeitos adversos observados no desenvolvimento intra-uterino e pós-natal, após exposição materna a agentes estressogênicos durante o período de gestação, têm sido atribuídos à elevação dos níveis plasmáticos de glicocorticóides maternos e fetais (EDWARDS; BURNHAM, 2001). A elevação dos níveis plasmáticos maternos de glicocorticóides, principalmente a corticosterona em roedores, resulta da ativação do eixo HPA em resposta ao agente estressor. Takahashi et al. (1998) verificaram,

em ratos, uma correlação positiva nos níveis de corticosterona maternos e fetais após a aplicação de estresse crônico durante o período de gestação.

O modo como os níveis de corticosteróides fetais se elevam na vigência de estresse materno é ainda controverso. Uma possibilidade é a de que estes glicocorticóides atravessam a placenta e a barreira hematoencefálica e atingem o concepto (ARISHIMA et al, 1977; ZARROW, 1970). Entretanto, existem relatos de que a transferência dos corticosteróides maternos ao feto ocorre de maneira lenta devido à expressão da enzima  $11\beta$ -HSD ( $11\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase), que converte corticosteróides a produtos inativos (EDWARDS et al, 1996).

Uma outra possibilidade é a de que o CRH materno, liberado pelo hipotálamo em situações de estresse, atravessa a barreira placentária e ativa diretamente o eixo HPA fetal. Entretanto, estudos em ratos indicam que a transferência de CRH materno através da placenta é bastante limitada (WILLIAMS et al, 1998). Estudos recentes realizados em primatas demonstram que a elevação dos níveis de glicocorticóides pode estimular as células da placenta a produzir CRH e outros hormônios relacionados ao estresse (PETRAGLIA et al, 1996).

Outra possibilidade a ser aventada envolve a redução do fluxo sanguíneo útero-placentário em situações de estresse, e diz que os corticosteróides e particularmente as catecolaminas liberadas na resposta ao estresse influenciam no tônus dos vasos sanguíneos. O estresse materno também está associado com aumento da atividade uterina, e a ocorrência regular de contrações uterinas, especialmente as de longa duração, podem, repetidamente, interromper a passagem transplacentária de oxigênio e nutrientes para o concepto e então acarretar em prejuízos ao feto (MULDER; VISSER, 1987). Por sua vez, a redução do suprimento de oxigênio e nutrientes para o feto constitui uma significativa forma de estresse que pode levar ao aumento da liberação de CRH placentário (HELSINKI, 2000).

Várias formas de estresse têm sido aplicadas em animais prenhes no intuito de verificar os efeitos no desenvolvimento embriofetal, tais como os estressores psicológicos, que refletem respostas a condições adversas previamente conhecidas, os estressores sociais, que refletem distúrbios nas interações entre indivíduos, e os

estressores físicos que, dependendo da situação, possuem um componente psicológico positivo ou negativo e envolvem a exposição a temperaturas extremas, radiação intensa, ruído, vibração e imobilização dentre outros (PACÁK; PALKOVITS, 2001).

O estresse por imobilização vem sendo amplamente utilizado como modelo de indução de estresse em animais de laboratório. Este tipo de estresse envolve aspectos físicos e psicológicos, produzindo alterações características de estresse sistêmico como perda de peso, ativação de secreções adrenocorticais, liberação de adrenalina e úlcera gástrica (RIEGLE, 1973; BARLOW et al, 1978), além de interferir nos processos reprodutivos em diferentes estágios do desenvolvimento.

Normalmente, as respostas máximas dos sistemas efetores ao estresse por imobilização são observadas nos primeiros 30 minutos após o início de indução (PACÁK; PALKOVITS, 2001). Com a repetição do procedimento de imobilização ao longo dos dias, ou seja, com o estresse prolongado, pode-se verificar diferentes efeitos sobre o eixo HPA: a adaptação ao estressor ou a potencialização (facilitação) da resposta frente a um novo estressor (BHATNAGAR; DALLMAN, 1998). Considera-se que a exposição a agentes estressores de baixa intensidade, por um curto período de tempo, costuma levar à incapacidade de manutenção de uma resposta elevada do eixo HPA (adaptação), enquanto a estimulação repetitiva por um estímulo estressor de grande intensidade e frequência pode resultar num estado de ativação máxima desse eixo (facilitação ou potencialização) (BRISKI; SYLVESTER, 1987; RIVIER; VALE, 1987; PITMAN et al, 1990).

No presente estudo o estresse utilizado foi o de imobilização, por um período diário de 1 hora durante os dias 5 a 19 de gestação ou 14 a 20 de gestação. Para verificar a eficiência do procedimento de estresse utilizado foram avaliados os níveis de corticosterona plasmática ao início do experimento, para que tivéssemos os níveis normais de cada animal, ao meio e ao final do período de estresse. As duas últimas determinações foram realizadas para avaliar a possível ocorrência de adaptação do animal ao estresse.

Os resultados das dosagens de corticosterona indicam que o estresse utilizado foi um eficiente agente estressor, com base nos aumentos dos níveis de corticosterona plasmática nos animais que foram imobilizados, quando comparados com os seus níveis basais e com os níveis dos animais que não foram submetidos à imobilização. Além disso, o estresse diário nos períodos estabelecidos para o experimento não resultou em adaptação, verificada pela manutenção dos níveis elevados de corticosterona ao final do período de indução. Por sua vez, os grupos que receberam o dicofol associado ao estresse não apresentaram também diferenças nos níveis de corticosterona que pudessem ser relacionadas à adaptação.

Os níveis médios de corticosterona plasmática (em ng/mL, dados não tabelados), referentes ao início, meio e final do período de indução, obtidos foram: 132,4; 132,3; 145,0 e 153,4; 154,6; 158,3 respectivamente para os grupos controle e tratados não-estressados, e 106,9; 268,3; 320,4 e 146,0; 266,5; 288,6 para os grupos controle e tratados estressados, tratados dos dias 5 a 19 de gestação. Nos grupos tratados nos dias 14 a 20 de gestação os níveis obtidos foram: 139,5; 124,6; 114,3 e 171,0; 171,8; 151,0 respectivamente para os grupos controle e tratados não-estressados e 139,8; 355,9; 398,8 e 156,0; 360,6; 365,1 para os grupos controle e tratados estressados, tratados dos dias 14 a 20 de gestação. Como não foram verificadas diferenças entre os grupos tratados com dicofol no que se refere aos níveis de corticosterona, os dados foram agrupados para esta apresentação.

Estes dados estão de acordo com os obtidos por outros autores demonstrando que situações estressantes resultam no aumento dos níveis de corticosterona plasmática de ratas prenhes (BARLOW et al, 1978; SMYTHE et al, 1996; PATIN et al, 2002).

O tipo e a duração do estresse utilizado neste estudo foram selecionados de forma a não causar alterações homeostáticas severas no organismo materno, o que poderia resultar em alta taxa de mortalidade intrauterina (EUKER; RIEGLE, 1973), dificultando a caracterização de possíveis alterações embriofetais decorrentes da exposição ao inseticida dicofol e ao estresse como fator de risco agregado.

Normalmente, as alterações no desenvolvimento embriofetal são resultantes de efeitos diretos no concepto a nível celular. Entretanto, o desenvolvimento durante os períodos de gestação e pós-natal pode ser influenciado também por mecanismos indiretos, ou seja, através de efeitos tóxicos sobre o organismo materno ou sobre a placenta, ou ainda pela combinação de efeitos diretos e indiretos. A distinção entre toxicidade embriofetal direta ou indireta é particularmente importante nos testes de avaliação de toxicidade pré-natal de agentes químicos, devido à necessidade de estabelecermos se, as alterações embriofetais observadas são decorrentes das mudanças na homeostase materna resultantes da intoxicação, ou se, são observadas mesmo em sua ausência. Desta forma, nos estudos de toxicidade pré-natal, as doses mais altas são selecionadas baseadas na sua habilidade em produzir sinais leves de toxicidade materna (ROGERS; KAVLOCK, 1996).

Segundo Khera (1984), a toxicidade materna pode *per se* causar efeitos embriofetotóxicos, baseado no fato de que a administração de doses tóxicas, de diferentes agentes químicos, ao organismo materno resulta em efeitos como: redução do peso fetal, aumento de reabsorções, morte intra-uterina, além de alterações fetais que incluem exencefalia, alterações na pálpebra dos animais (*open eyes*), hemi-vértebras, arcos ou corpos vertebrais lombares e torácicos fundidos, costelas ausentes ou extranumerárias, e esternóbrios ausentes ou irregulares. Estas alterações fetais não foram observadas com a exposição a doses não-tóxicas ao organismo materno desses mesmos agentes.

Entretanto, Chernoff et al (1990) verificaram, em ratos, os efeitos da administração de diferentes agentes químicos que apresentavam pouco ou nenhum efeito tóxico sobre o desenvolvimento pré-natal. Esses agentes foram administrados em doses suficientemente altas para produzir toxicidade materna, caracterizada por perda de peso corporal ou por aumento na incidência de óbitos. Nessas doses, os autores verificaram que a maioria dos agentes apresentou efeitos sobre o desenvolvimento embriofetal, tais como: aumento da mortalidade intra-uterina, diminuição do peso fetal, aumento da incidência de costelas extranumerárias e de pélvis renal dilatada. Entretanto, alguns agentes não causaram embriofetotoxicidade apesar da acentuada toxicidade materna. Deste modo, os autores sugerem que a toxicidade materna, definida por perda de peso corporal ou mortalidade, pode em



algumas situações, não estar associada com efeitos adversos no organismo em desenvolvimento.

Baseados nessas observações conflitantes, decidimos por administrar doses crescentes de dicofol, 5, 10 e 20 mg/kg/dia, insuficientes para causar excessiva toxicidade e mortalidade materna. A escolha dessas doses foi baseada em estudos nos quais foi observado aumento do peso relativo do fígado, além da redução do peso corporal e do consumo de ração de ratas após tratamento com a dose de 25 mg/kg/dia durante os dias 6 a 15 de gestação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

Além da dose de exposição materna, outros fatores podem influenciar no desenvolvimento embriofetal, entre estes, o período da gestação onde ocorre a exposição, que é dividido segundo sua sensibilidade em período pré-implantação, período organogênico e período fetal (LEMONICA, 2003).

O conceito é particularmente sensível aos agentes tóxicos durante o período de organogênese. Este período caracteriza-se pela intensa proliferação, divisão e diferenciação celular dos diferentes órgãos e sistemas, e nesse a exposição materna a xenobióticos pode resultar em anomalias estruturais no conceito. O período organogênico não pode ser definido precisamente desde que não existe um ponto determinado para o término do desenvolvimento dos órgãos e dos sistemas. Deste modo, para propósitos práticos, identifica-se o período organogênico como o compreendido entre a implantação do zigoto até o fechamento do palato duro e como o período mais sensível da gestação de mamíferos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

O final do período organogênico marca o início do período fetal, que é caracterizado pela diferenciação tecidual, crescimento e maturação fisiológica. Isto não quer dizer que a formação do órgão está completa, mas quase todos os órgãos estão presentes e reconhecíveis. Além disso, o desenvolvimento dos órgãos estende-se durante o período fetal quando então alcançam a funcionalidade necessária antes do nascimento, incluindo a morfogênese estrutural fina, como a

eminência e a gênese das sinapses neurais, e a maturação bioquímica, como a indução de enzimas e de proteínas estruturais (ROGERS; KAVLOCK, 1996).

No delineamento dos testes de toxicidade pré-natal, tem-se considerado que o período crítico para o desenvolvimento estrutural estende-se durante os períodos embrionário e fetal, e o tratamento durante estes períodos assegura que sejam detectados os danos específicos a cada estrutura em particular (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Deste modo, no intuito de verificar os efeitos decorrentes da exposição ao dicofol concomitantemente ao estresse por imobilização, sobre o desenvolvimento do embrião e do feto, o tratamento foi realizado desde a implantação embrionária até o final da gestação.

Para avaliarmos se as doses administradas poderiam vir a causar toxicidade materna, foram realizados diariamente exames físicos e comportamentais. Nestes, foram observados alterações de pelagem, presença de sialorréia, diarreia, apatia, agressividade, perda do comportamento de autolimpeza, entre outros parâmetros, além do acompanhamento do peso corporal e do consumo de ração durante o período gestacional.

O consumo de ração e o ganho de peso corporal possuem uma influência importante em muitos aspectos das respostas do animal, incluindo alterações nos mecanismos metabólicos, hormonais e homeostáticos, e nos processos patológicos e de maturação (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION FOR DEVELOPMENT, 2002).

Verificamos assim o peso corporal materno durante todo o período de gestação, e, a partir desses dados o ganho de peso corporal e o ganho de peso corrigido, obtido da diferença entre os pesos corporais inicial e terminal descontado do peso da ninhada.

O estresse aplicado durante o período de desenvolvimento embriofetal não resultou em alterações no peso corporal materno, bem como no ganho de peso

corporal. Foi verificado, porém, redução significativa no ganho de peso corrigido das ratas dos grupos estressados em relação às ratas dos grupos não-estressados, não havendo alterações significativas nos grupos tratados com dicofol em relação aos grupos controle. Deste modo, o estresse por imobilização durante 1 hora por dia, durante os períodos organogênico e fetal, diminuiu significativamente o ganho de peso materno corrigido, não havendo interação entre o tratamento com o dicofol e o estresse.

Além disto, pudemos verificar que não houve alterações significativas no consumo de ração nos grupos tratados com o dicofol em relação aos seus controles, exceto no início do tratamento com a dose mais alta, confirmando a ausência de toxicidade das doses utilizadas. Com relação às ratas submetidas ao estresse não foram observadas alterações significativas nestes parâmetros comparando-se aos do grupo não-estressado.

Na avaliação macroscópica dos animais, os pesos absoluto e relativo dos órgãos fornecem os primeiros sinais de alterações distróficas ou displásicas resultantes de efeitos tóxicos decorrentes da exposição a um agente químico ou a um fator estressogênico.

No presente estudo, foram obtidos os pesos absoluto e relativo (ao peso corporal) dos órgãos-alvo relacionados ao tratamento com o dicofol e ao estresse. Em estudos de toxicidade subcrônica e crônica do dicofol em ratos foram observadas alterações nos pesos dos rins, fígado, e baço (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996) enquanto que o tratamento durante o período de gestação resultou no aumento do peso do fígado. Por outro lado, estudos em ratos submetidos ao estresse relatam efeitos como redução das adrenais e aumento no peso do timo e da hipófise. Neste estudo, a avaliação macroscópica e dos pesos absoluto e relativo da hipófise, timo, rins, adrenais, baço e fígado, não revelou diferenças entre os grupos tratados e os grupos estressados em relação aos seus respectivos controles.

Para verificar se o tratamento com o dicofol e o estresse resultaria em alterações na performance reprodutiva materna, avaliamos em cada animal ao final

do período de gestação o número de corpos lúteos, de implantações, de reabsorções precoces e tardias, de fetos viáveis e mortos, além da avaliação da perda embrionária pré-implantação. Não foi verificada influência do dicofol ou do estresse nos parâmetros de performance reprodutiva materna, e nem efeitos resultantes da interação de ambos fatores.

Podemos concluir, com base nos resultados maternos obtidos, que o objetivo de utilizar doses não-tóxicas de dicofol foi obtido, exceto na maior dose onde foram observados efeitos maternos leves, e que o estresse materno não resultou em alterações homeostáticas severas, embora tenha sido suficiente em atuar no eixo HPA através do aumento nos níveis plasmáticos maternos de corticosterona.

Estudos realizados com o dicofol verificaram que a exposição materna a doses diárias de 25 mg/kg/dia de dicofol durante o período organogênico não resultou em aumento no número de perdas embrionárias pós-implantação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

Com relação ao estresse pré-natal, os dados da literatura são contraditórios. Eukler e Riegle (1973) submetendo ratas prenhes ao estresse de contenção, 2 horas por dia, em diferentes períodos da gestação verificaram aumento no índice de mortalidade embrionária. Por sua vez, estudos utilizando estresse crônico intermitente durante diferentes períodos da gestação, incluindo o organogênico e o fetal, não verificaram aumento de mortalidade intra-uterina (GUO et al, 1993; ROJO et al, 1985).

Em nosso estudo, a avaliação dos possíveis efeitos dos tratamentos sobre a mortalidade intra-uterina foi realizada através da determinação da porcentagem de perda embrionária pós-implantação que estabelece uma relação entre o número de embriões que se implantaram e os que se desenvolvem normalmente. A análise dos resultados obtidos mostrou não haver diferenças significativas entre os grupos experimentais, indicando que a exposição materna ao dicofol ou ao estresse no período de maior sensibilidade do conceito não resultou em morte embrionária, assim como não houve interação entre esses dois fatores.

Além do possível efeito embrioletal, observamos também se o tratamento durante os períodos organogênico e fetal resultava em efeito tóxico sobre o organismo em desenvolvimento. Esse efeito foi avaliado através da determinação do grau de desenvolvimento fetal e do aumento na incidência de anomalias e/ou malformações na prole.

Em estudos de toxicidade pré-natal realizados com o dicofol (dose de 25 mg/kg/dia) não foram observados efeitos tóxicos no desenvolvimento intra-uterino, avaliado através do peso corporal dos fetos e pela avaliação do grau de desenvolvimento esquelético (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993). Em nosso estudo, os fetos provenientes dos grupos tratados com doses variadas de dicofol não apresentaram também diferenças com relação ao peso corporal e ao grau de ossificação.

A literatura apresenta dados controversos em relação ao grau de desenvolvimento intra-uterino de fetos de mãe estressadas. Estudos envolvendo estresse pré-natal, por contenção ou outros tipos de estresse crônico (GUO et al, 1993; ROJO et al, 1985), relatam ausência de efeitos sobre o peso corporal dos fetos. Entretanto, em outros estudos foi observado aumento do peso corporal dos fetos (FRIDE; WEINSTOCK, 1984), e retardo no desenvolvimento fetal (BARLOW et al, 1978).

Nossos dados demonstram que os grupos estressados e não-estressados não apresentaram diferenças quanto ao grau de desenvolvimento fetal. Não foi observada também interação entre a exposição ao agente químico e o estresse materno pré-natal.

Outro atributo observado diz respeito à incidência de malformações ou variações externas, esqueléticas ou viscerais que pudessem ser associadas aos tratamentos. Dados da World Health Organization (1993) relatam não haver aumento na incidência de anomalias e/ou malformações nos fetos tratados com doses de 25 mg/kg/dia durante o período organogênico. Por outro lado, revisão realizada por Barlow et al. (1978), verificou que os efeitos embriofetotóxicos do

---

estresse materno por imobilização apresentam diferenças entre as espécies animais. Em camundongos, a imobilização materna por contenção durante a embriogênese resulta em morte intra-uterina e malformações congênitas, enquanto que ao final do período de gestação resulta no aumento da incidência de fendas palatinas. Os ratos parecem ser mais resistentes aos efeitos teratogênicos do estresse por contenção. No início da gestação pode ser associado a significantes perdas pré-implantação e em períodos mais tardios da gestação à morte intra-uterina, abortos ocasionais e retardos do crescimento fetal.

Não foram observadas malformações que pudessem ser associadas ao tratamento com o dicofol mesmo quando associado ao estresse materno.

Variações esqueléticas como costelas extranumerárias e alterações de esternóbrios foram observadas nos fetos provenientes tanto do grupo controle como dos grupos tratados com o dicofol. Estes tipos de alterações esqueléticas podem ser induzidos por xenobióticos com grande facilidade, sendo por isso considerados como indicadores de fetotoxicidade (BLACK; MARKS, 1986), ou serem atribuídos ao estresse materno (CHERNOFF et al, 1991). Entretanto, como estas variações esqueléticas ocorreram com alta frequência também nos grupos controles, não podemos associá-las aos tratamentos.

Nossas observações vem de encontro aos observado por Barlow et al. (1978), pois a contenção das ratas não resultou em efeitos teratogênicos.

Observamos que a exposição ao dicofol, ao estresse ou a interação destes fatores durante o período organogênico e fetal não interferiu com o desenvolvimento embriofetal, quer aumentando a incidência de anomalias ou malformações, quer aumentando o índice de letalidade.

A exposição aos agentes químicos durante o período fetal pode resultar em efeitos no crescimento e maturação funcional. Anomalias funcionais do SNC e do sistema reprodutivo, incluindo deficiências comportamentais, mentais ou motoras e diminuição da fertilidade, estão entre os possíveis resultados adversos observados. Estas manifestações não são evidentes durante o período pré-natal e requerem

observações pós-natal cuidadosas (ROGERS; KAVLOCK, 1996). Revisões de literatura científica relatam deficiências funcionais pós-natal no SNC (RODIER et al, 1994), no sistema imunológico (HOLLADAY; LUSTER, 1994), no coração, nos pulmões e nos rins (LAU; KAVLOCK, 1994) de recém-nascidos. Alterações estruturais podem também ocorrer durante o período fetal, mas normalmente estas alterações resultam de deformações, ou seja, de rupturas de estruturas normais, mas não de estruturas malformadas (ROGERS; KAVLOCK, 1996).

Optamos pois, pelo tratamento durante o período fetal, ou seja, do dia 14 a 20 de gestação, período este caracterizado pelo crescimento e desenvolvimento dos diferentes sistemas do organismo, inclusive o SNC, com o objetivo de detectar os efeitos do dicofol e do estresse no desenvolvimento pós-natal.

Durante o período de tratamento, os animais estressados e não-estressados tratados com a dose de 20 mg/kg/dia apresentaram redução significativa no peso corporal assim como no consumo de ração, e os animais não-estressados tratados com a dose de 10 mg/kg/dia apresentaram redução apenas no consumo de ração. Não foram verificados sinais clínicos de intoxicação durante o tratamento.

Estes resultados indicam que o tratamento durante o período fetal resultou em leve toxicidade materna nos grupos tratados com dicofol nas doses de 10 e 20 mg/kg/dia apenas durante o período de tratamento, sem haver efeitos resultantes da interação do estresse e do dicofol.

Durante o período de lactação não foram observados sintomas clínicos de intoxicação nos animais dos diferentes grupos, permanecendo inalterados seus padrões comportamentais e parâmetros físicos. Durante o período de lactação, apesar de ter sido observados diminuição significativa no peso corporal e aumento significativo no consumo de ração nos animais não-estressados tratados com a dose de 20 mg/kg/dia, esses parâmetros mantiveram padrão semelhante ao apresentado pelos animais dos grupos controle.

O comportamento maternal das ratas, cuja alteração de padrão poderia se refletir no desenvolvimento físico e comportamental da prole, foi também observado.

Segundo Morgan (1973) podem ser identificadas 3 etapas no comportamento materno: a construção do ninho, o recolhimento dos filhotes e a amamentação. Patin et al. (2002) relatam que ratos recém-nascidos são imaturos e sua sobrevivência depende da habilidade de sua mãe em cuidá-lo. De fato, sua temperatura corporal, que não pode ser regulada através de mecanismos fisiológicos, depende da temperatura ambiente que é mantida através do cuidado materno. Deste modo, o recolhimento e o ato de cavar a cama ou a maravalha, que são os principais componentes envolvidos na construção do ninho, são importantes padrões comportamentais na manutenção da temperatura corporal dos filhotes. Em ratos, 5 dias antes do parto, a atividade de construir ninhos é aumentada, persistindo após o nascimento dos filhotes. O lambar e o farejar são atividades envolvidas no reconhecimento dos filhotes e representam estímulos fundamentais para os filhotes urinarem ou defecarem. Além disso, o comportamento de carregar os filhotes pela cauda e transportá-los até o ninho está ligado com a relação da mãe com o seu ninho, e com a habilidade do filhote de procurar o alimento após o desmame, o que pode ser importante no comportamento alimentar.

O comportamento materno, porém, pode estar alterado quando a fêmea encontra-se intoxicada por um agente químico, ou pode ser influenciado por fatores como o estresse pré-natal (FRIDE et al, 1985), a desnutrição (FRANKOVA, 1971), entre outros, e nestes casos a fêmea deixa de cuidar da sua prole adequadamente.

Segundo revisão feita por Patin et al. (2002), tem sido demonstrado que o estresse durante a gestação afeta as interações mãe-filho imediatamente após o nascimento e no período de lactação, influenciando no desenvolvimento do sistema nervoso embrionário, alterando permanentemente o comportamento da prole. Algumas estruturas neurais da mãe, como a área pré-óptica medial do hipotálamo, desempenham um papel importante no controle do comportamento materno em ratos, e pode ser possível que o estresse gestacional atue nestas estruturas e altere o comportamento materno. Olazabal e Ferreira (1997) relatam que as vias de ejeção do leite estão envolvidas na modulação de alguns componentes do comportamento materno em ratos, e que a liberação de ocitocina em diversas regiões do cérebro, em resposta ao estímulo de sucção, pode modular o comportamento materno.



A avaliação do comportamento materno pelo método de escores proposto por Soderstein e Eneroth (1984), demonstrou que o estresse não alterou os padrões de comportamento materno visto não haver alterações significativas nesses parâmetros entre os grupos não-estressado e estressado, e também nos grupos tratados em relação aos seus controles.

Os outros atributos estudados demonstram não haver alterações significativas quanto ao número total de filhotes, à perda embriofetal ou à presença de malformações externas nos grupos expostos ao dicofol, assim como nos grupos estressados em relação aos grupos não-estressados. Embora não tenha sido realizada a análise interna dos filhotes, podemos inferir não terem ocorrido alterações importantes na prole, visto que o índice de mortalidade perinatal não foi aumentado em relação ao apresentado pelo grupo controle.

Ao realizarmos estudos sobre as possíveis alterações comportamentais da prole, devemos avaliar o aparecimento dos sinais físicos e reflexológicos dos filhotes. Isto porque, diferentemente dos humanos, os ratos nascem em estágio embrionário e seria inútil oferecer um estímulo a estes animais quando eles não o podem perceber devido os seus órgãos sensoriais correspondentes não estarem maduros, ou seu sistema motor ainda não estar desenvolvido (ALDER, 1983).

O acompanhamento do peso dos filhotes, assim como os demais parâmetros físicos, reflexológicos e de atividade motora espontânea foram avaliados separadamente de acordo com o sexo. Este procedimento deve-se às diferenças no desenvolvimento entre machos e fêmeas decorrentes de fatores intrínsecos que atuam sobre o desenvolvimento de cada sexo, tais como as diferenças hormonais. Os padrões de comportamento exibidos por cada sexo também diferem e são chamados de comportamentos sexualmente dimórficos. Além disso, no intuito de não haver influência do tamanho da ninhada sobre o desenvolvimento físico e comportamental da prole, foi feita a padronização do número de filhotes em 8, sempre que possível 4 machos e 4 fêmeas, no dia 4 pós-natal.

Na avaliação do desenvolvimento físico, um importante parâmetro a ser considerado é o peso corporal dos filhotes, que pode estar comprometido pela ação de um agente químico ou por um fator estressogênico. Não foram verificadas alterações significativas nos pesos dos filhotes ao nascimento e nos dias 4, 7, 14 e 21 pós-natal, sugerindo não haver efeito do tratamento, do estresse e nem da interação entre os dois fatores, sugerindo não haver interferências no desenvolvimento ponderal da prole. Estes dados são similares aos previamente obtidos em estudos utilizando o mesmo tipo de estresse pré-natal, no qual não foram observadas alterações no peso corporal dos filhotes (ROJO et al, 1985; MENENDEZ-PATTERSON et al, 1982) ou em estudos que utilizaram outros tipos de estresse (FRIDE; WEINSTOCK, 1984; GUO et al, 1993; VELARDO, 1957; MOYER et al, 1978). Embora outros autores tenham encontrado diferenças significativas no peso corporal dos filhotes (BARLOW et al, 1978, BECKHARDT; WARD, 1983; DAHLÖF et al, 1978; HERRENKOHL & WHITNEY, 1976), devemos considerar que esses autores submeteram os animais a condições mais severas de estresse.

Além disso, estudo realizado em duas gerações de ratos administrando doses diárias de 18 mg/kg/dia de dicofol na dieta, verificaram redução no crescimento dos filhotes durante o período de lactação de ambas gerações, F1 e F2 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993), diferindo dos resultados por nós obtidos. Entretanto, devemos considerar que nesse estudo a exposição ao dicofol foi de longa-duração, isto é, as fêmeas receberam o tratamento durante os períodos de pré-acasalamento, de gestação e de lactação, enquanto que no nosso estudo foram expostas somente durante o período fetal da gestação (dia 14 a 20 de gestação).

Na avaliação do desenvolvimento físico, além do acompanhamento do peso fetal, foi observado o dia de aparecimento de pêlos, do desdobramento de orelhas, da erupção dos dentes incisivos e da abertura de olhos. O aparecimento desses parâmetros apresenta correlação com o peso corporal dos filhotes. Pudemos verificar que o tratamento com o dicofol e o estresse no período fetal da gestação não alterou os parâmetros estudados, os quais ocorreram em dias semelhantes aos dos grupos controle.

Atualmente, considerável atenção tem sido dispensada aos contaminantes ambientais que podem interferir na função endócrina, principalmente nas atividades estrogênicas e androgênicas (NILSSON, 2000). Estes agentes químicos são conhecidos como disruptores ou desreguladores endócrinos e são definidos como agentes exógenos que interferem na síntese, armazenamento, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormônios responsáveis pela regulação da homeostase e dos processos do desenvolvimento (KAVLOCK et al, 1996).

O dicofol vem sendo citado como um disruptor endócrino, devido à similaridade estrutural com o DDT, que possui ação estrogênica fraca (COOPER e KAVLOCK, 1997), e o DDE, potente agente anti-androgênico (KELCE et al, 1995). As consequências da interferência no sistema endócrino podem ser significativas durante o desenvolvimento embriofetal devido ao papel que os hormônios desempenham no controle dos processos irreversíveis e temporais deste período (CHAPIN et al, 1996). Os agentes químicos que apresentam propriedades de interferir no sistema endócrino são responsáveis por um grande número de alterações reprodutivas e de anomalias no desenvolvimento em uma ampla variedade de espécies de invertebrados, peixes, répteis, pássaros e mamíferos, incluindo o homem. Os agentes estrogênicos podem, por exemplo, masculinizar o cérebro de roedores fêmeas e induzir puberdade precoce, por sua vez, os agentes com atividade anti-androgênica podem alterar a diferenciação sexual do trato reprodutivo masculino e feminizar o cérebro de roedores machos (COOPER & KAVLOCK, 1997).

Por outro lado, situações estressantes, como o calor, a luz e a contenção, durante o último terço da gestação induzem alterações do comportamento sexual na vida adulta da ninhada, caracterizadas por diminuição do comportamento sexual masculino (desmasculinização) e facilitação do comportamento de lordose (feminização) em ratos machos. Estas alterações podem ser devidas à influência do estresse nas concentrações de andrógenos fetais e maternos nos estágios iniciais do desenvolvimento, incluindo alterações de testosterona circulantes durante a ontogenia perinatal (WARD, 1972). Os aumentos da secreção de corticosterona nas ratas gestantes estressadas podem suprimir a produção de andrógenos, como a

testosterona, nos testículos fetais. O pico de testosterona específico de cada espécie, observado nos dias 18 e 19 de gestação de ratos, é essencial na diferenciação do comportamento sexual. Alterações nos níveis de andrógenos podem influenciar o comportamento sexual do animal, além de resultar em alterações morfológicas no desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos, como a incompleta diferenciação do trato genital (HUIZINK et al, 2000).

Um outro objetivo de nosso estudo diz respeito à possibilidade da exposição materna ao dicofol na vigência de estresse poderia alterar os níveis hormonais da prole, interferindo desta forma em suas características sexuais. Verificamos assim, a distância anogenital dos filhotes no dia do nascimento, e a idade em que os animais alcançaram a puberdade, através da verificação da abertura vaginal das fêmeas e da separação do prepúcio dos machos, indicadores de possível interferência anti-androgênica ou estrogênica (BARROW, 2000). Optamos pela verificação da separação do prepúcio como indicador da maturidade sexual em machos devido à associação deste parâmetro com os aumentos nos níveis de testosterona, enquanto que a descida dos testículos no saco escrotal, parâmetro amplamente utilizado, não apresenta tal correlação e apresenta muita variabilidade.

Não foram observadas diferenças na distância anogenital de machos e fêmeas, separadamente, e no dia de maturidade sexual (abertura vaginal e separação do prepúcio) nos grupos tratados com dicofol ou submetidos ao estresse por contenção. Não foi observada também interação entre esses dois fatores.

Nossos dados coincidem com os observados em estudos reprodutivos, nos quais não foram observadas alterações nos dias de abertura vaginal e separação do prepúcio de ninhadas de ratas expostas a doses de 11 mg/kg/dia de dicofol na dieta durante os períodos de pré-acasalamento, de gestação e de lactação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

Com relação ao estresse isoladamente, nossos resultados diferem dos encontrados na literatura, os quais relatam a diminuição da distância anogenital de filhotes machos (DAHLÖF et al, 1978; SHONO et al, 1999) e atraso na maturidade sexual de filhotes estressados por contenção no período pré-natal (SHONO et al,

1999). Outros autores, entretanto, verificaram não haver alterações na puberdade dos filhotes fêmeas de mães estressadas no período pré-natal (GUTIERREZ et al, 1989). Os resultados conflitantes devem-se provavelmente ao tipo e duração de estresse aplicado.

O desenvolvimento histológico, bioquímico e funcional dos principais órgãos, dentre eles o cérebro, continuam durante o período pós-natal. Desta forma, a exposição a agentes químicos nos estágios iniciais do desenvolvimento do cérebro pode acarretar em malformações estruturais, como falha no fechamento do tubo neural, já nos estágios mais tardios podem ocorrer alterações sutis na bioquímica ou na estrutura do cérebro, que resultam em deficiências temporárias ou permanentes das funções neurológicas, comportamentais ou intelectuais. Entretanto, freqüentemente são necessários testes comportamentais e funcionais para a detecção de tais alterações (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Além da influência dos agentes químicos, as elevações dos níveis plasmáticos maternos de corticosterona, como as que ocorrem em situações de estresse durante os períodos críticos do desenvolvimento do cérebro da ninhada, podem interferir também no desenvolvimento neurológico e comportamental normal, modificando a organização neuroanatômica e bioquímica do cérebro de ratos machos e fêmeas (FRIDE; WEINSTOCK, 1984). Segundo revisão feita por Weinstock (2001), as anormalidades no desenvolvimento e no comportamento das ninhadas estressadas durante o período pré-natal podem ocorrer através da sensibilização do cérebro fetal pelos hormônios maternos do estresse, e a natureza das anormalidades comportamentais provavelmente é dependente do período do estresse materno em relação ao desenvolvimento dos sistemas neuronais em particular.

Deste modo, além dos sinais físicos, no período de vida que compreende o nascimento até o desmame, podem ser observadas as respostas motoras dos filhotes, avaliadas com o aparecimento de reflexos. Assim, foram testados os reflexos de geotaxia negativa e postural, que refletem as funções do sistema vestibular envolvido com a noção espacial dos animais e dependem de estruturas medulares que são as primeiras a chegar à maturidade (HOOKER, 1952) e um outro

reflexo, também medular, o de preensão palmar, que envolve respostas motoras do animal e tende a desaparecer com seu desenvolvimento. Não foi verificada qualquer influência do dicofol ou do estresse, ou da interação de ambos fatores, sobre quaisquer reflexos testados.

No estudo comportamental de ratos, um dos procedimentos utilizados para se avaliar os possíveis efeitos das drogas sobre o SNC é o campo aberto, que avalia os movimentos espontâneos do animal. Este teste consiste em submeter o animal a um ambiente diferente do que ele se encontra normalmente, ou seja, a um ambiente não-familiar. O campo aberto abrange estes requisitos desde que se utilize um ambiente em que o animal não tenha estado previamente e que as dimensões sejam maiores do que as usualmente utilizadas pelo animal. Estas condições asseguram que o campo aberto seja estranho e levemente agressivo para o rato (DENENBERG, 1969).

A resposta comportamental do animal ao ambiente é normalmente medida através das frequências de locomoção, levantar, imobilização, limpeza e defecação, que são registradas como uma expressão de emocionalidade e exploração (CUNHA; MASUR, 1978; ALDER, 1983).

Quando se expõe o filhote ao campo aberto pela primeira vez, ou seja, dá-se um estímulo estranho ou agressivo, este pode apresentar dois tipos diferentes de respostas. A primeira é uma resposta adaptativa onde o animal apresenta a tendência a não se movimentar, como que dificultando assim a observação de um possível predador. Uma outra resposta seria devida a uma atividade exarcebada do SNA, que pode ser avaliada através do aumento de defecação do animal. Deste modo, a locomoção, no primeiro dia do teste, expressa a emocionalidade do animal quando associada à defecação, enquanto que nos demais dias avalia o comportamento exploratório e o padrão de desenvolvimento motor (DENENBERG, 1969). Além disso, o limpar é considerado por alguns autores como a expressão de decréscimo na emocionalidade (BERNARDI; PALERMO NETO, 1980).

Na avaliação da atividade motora espontânea dos filhotes, não foram observadas alterações significativas nos parâmetros de locomoção, levantar,

limpeza, tempo de imobilização ou defecação nos filhotes dos grupos estressados em relação aos dos grupos não-estressados. Não foram também observadas alterações significativas destes parâmetros nos grupos tratados com o dicofol em relação aos grupos não-tratados. Alterações na emocionalidade associada por vários autores à defecação não foi também por nós observada.

Diante da ausência de efeitos adversos no desenvolvimento embriofetal e pós-natal dos grupos estressados neste estudo, procuramos verificar os fatores que pudessem justificar as discrepâncias dos resultados obtidos por nós e de outros estudos, quando comparados com outros dados apresentados pela literatura.

O elemento comum dos estudos de estresse pré-natal em animais é o fato de que fêmeas prenhes são submetidas a fatores estressogênicos em situações controladas experimentalmente, o que acarreta em alterações na fisiologia materna e provavelmente em alterações no ambiente embriofetal. Subsequentemente, a influência do ambiente no conceito é avaliada através de parâmetros tais como tamanho da ninhada, peso ao nascimento, presença de malformações, e pela avaliação das respostas fisiológicas e comportamentais da ninhada sob condições padronizadas. Entretanto, os estudos podem variar amplamente de acordo com a metodologia empregada e com o rigor no controle de fatores, que podem confundir os resultados (HUIZINK et al, 2000). Deve-se ressaltar que a ausência de efeitos adversos no desenvolvimento embriofetal e pós-natal obtidos neste estudo, ocorreu mesmo na redução do ganho de peso materno corrigido e na evidência de liberação cortical materna.

Os animais de laboratório utilizados em estudos de estresse pré-natais têm sido expostos a uma grande variedade de agentes estressores incluindo injeções de salina, ruídos, isolamento social, choques elétricos na cauda, imersão na água, frio, calor, contenção ou imobilização, dentre outros. Estes agentes estressores não são comparáveis entre si, porque alguns consistem em dor, outros são estressores físicos não dolorosos, enquanto para outros estressores como a aglomeração ("crowding"), o elemento social é certamente o mais proeminente. Como consequência, cada um destes estressores pode dar origem a diferentes respostas fisiológicas no animal gestante. Alguns estudos têm evidenciado que as alterações

sexuais induzidas pelo estresse pré-natal estão ligadas à natureza do agente estressor, onde diferentes fatores estressogênicos produzem diferentes efeitos no comportamento sexual da prole, o que se atribui ao status neuroquímico particular induzido por cada agente estressor (VELAZQUEZ-MOCTEZUMA et al, 1993). Além disso, a remoção do animal da gaiola de origem para induzir o estresse pode ser uma variável crucial que por si mesma pode influenciar nos efeitos a serem observados (HUIZINK et al, 2000).

Outras variáveis entre os estudos de estresse pré-natal são o tempo, a frequência e a duração da aplicação do estresse (WEINSTOCK et al, 1988). A exposição ao estresse em diferentes períodos da gestação pode produzir respostas diferentes na prole (ARCHER; BLACKMAN, 1971). A exposição ao estresse de forma regular, como por exemplo a apresentação de ruídos em dias consecutivos, em séries consecutivas e em períodos fixos, pode levar rapidamente à adaptação, diferentemente quando aplica-se o estresse de forma imprevisível, podendo haver desta maneira diferenças nos efeitos fisiológicos maternos (FRIDE; WEINSTOCK, 1984). Um outro problema que está relacionado aos acima citados é a influência da intensidade do agente estressor. Por exemplo, FUJIOKA et al. (1999) sugerem que o estresse de imobilização de longa-duração (240 minutos) leva a efeitos neurotóxicos no núcleo paraventricular dos fetos, enquanto que o estresse de curta-duração (30 minutos) facilita o desenvolvimento destes neurônios cerebrais.

Nem todos os delineamentos experimentais têm incluído a avaliação das alterações na fisiologia materna causadas pelo estresse. Estas avaliações servem como um controle metodológico da efetividade da aplicação do estresse, e uma forma de obter informações relativas à sensibilidade e reatividade materna ao estresse e das relações dose-resposta dos vários tipos de agentes estressogênicos. Alguns autores discutem a necessidade de realizar o controle da perda de peso materno durante a exposição ou após exposição ao estresse, particularmente quando o estresse de imobilização ou contenção são utilizados (GUO et al, 1993; WARD; WAINWRIGHT, 1988). Este controle faz-se necessário, pois a perda de peso corporal por si mesma pode afetar adversamente o desenvolvimento fetal, devido às alterações homeostáticas que acarretam no organismo materno. Além disso, deve-se lembrar que alguns procedimentos de indução de estresse podem



interferir direta e fisicamente no feto, independente de eventuais alterações do ambiente fetal (HULTMAN et al, 1997).

A utilização de diferentes espécies e linhagens animais pode resultar em resultados discrepantes. Este fato foi relatado por STOHR et al (1998) que atribui os efeitos a longo-prazo no comportamento e no peso ao nascimento de filhotes estressados no período pré-natal, como dependentes da característica genética do animal.

Podemos assim observar que, a exposição a doses não tóxicas de dicofol durante o período organogênico e fetal de gestação de ratas não resultou em toxicidade para o conceito, não tendo sido observado, ao nascer, aumento na incidência de malformações e/ou variações externas, viscerais ou esqueléticas e tampouco retardo de desenvolvimento intra-uterino. A exposição às mesmas doses durante o período fetal não acarretou em alterações no desenvolvimento intra-uterino bem como na sobrevivência pós-natal e no desenvolvimento físico e comportamental da prole. Além disso, a ocorrência de estresse materno associado à exposição ao praguicida não potencializou os efeitos tóxicos da substância-teste na mãe e na prole em quaisquer dos parâmetros testados.

---

## 6. CONCLUSÃO

Podemos concluir pois que, o estresse moderado pré-natal não se constituiu num fator de risco agregado à exposição de mães e de suas proles a doses não-tóxicas do praguicida dicofol.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Monografias. D14 – Dicofol, 2000. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/d14.htm>. Acesso em: 25 fev. 2003.

ALDER, S. & ZBINDEN, G. Methods for the evaluation of physical, neuromuscular and behavior development of rats in early posnatal period. In: NEUBERT, D.; MERKER, T.E. *Methods in prenatal toxicology*, Stuttgart: Thieme, 1977. p.175-85.

ALDER, S. Behavioral Teratology. In: Zbinden, G.; et al. *Application of Behavioral Teratology*, New York: Raven Press, 1983, p.57-66.

ALIVERTI, V.; BONANOMI, L.; GIAVINI, E.; et al. The extend of fetal ossification as an index of delayed development in teratogenic studies on the rat. *Teratology*, v.20, p.237-42, 1979.

ANTHONY, M.; BERG, M.J. Biologic and molecular mechanisms for sex differences in pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics. Part II. *J Womens Health Gend Based Med*, v.11, p.617-629, 2002.

ARCHER, J.E.; BLACKMAN, D.E. Prenatal psychological stress and offspring behaviour in rats and mice. *Dev. Psychobiol.*, v.4, p.193-248, 1971.

ARISHIMA, K.; NAKAMA, S.; MORIKAWA, Y. et al. Maternal-foetal interrelations of plasma corticosterone concentrations at the end of gestation in the rat. *J Endocrinol*, v.72, p.239-240, 1977.

BARLOW, S.M.; McELHATTON, P.R.; SULLIVAN, F.M. The relation between maternal restraint and food deprivation, plasma corticosterone and induction of cleft palate in the offspring of mice. *Teratology*, v.12, p.97-104, 1975.

---

<sup>1</sup> ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Informação e documentação: referências: elaboração*: NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002.

BARLOW, S.M.; KNIGHT, A.F.; SULLIVAN, F.M. Delay in postnatal growth and development of offspring produced by maternal restraint stress during pregnancy in the rat. *Teratology*, v.18, p.211-218, 1978.

BARROW, P. *Reproductive and developmental toxicology safety studies*. Academic Press, 2000. p.199-225.

BECKHARDT, S.; WARD, I.L. Reproductive functioning in the prenatally stressed female rat. *Dev. Psychobiol.*, v.16, p.111-118, 1993.

BERNARDI, M.M.; PALERMO NETO, J. Atividade geral: conceito e medidas. *Psicologia*, v.6, p.43-55, 1980.

BHATNAGAR, S.; DALLMAN, M. Neuroanatomical basis for facilitation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to a novel stressor after chronic stress. *Neuroscience*, v.84, p.1025-1039, 1998.

BLACK, D.L.; MARKS, T.A. Inconsistent use of terminology in animal developmental toxicology studies: a discussion. *Teratology*, v.33, p.333-338, 1986.

BRISKI, K.P.; SYLVESTER, P.W. Effects of sequential acute stress exposure on stress-induced pituitary luteinizing hormone and prolactin secretion. *Life Sci.*, v.41, p.1249-1255, 1987.

BROWN, J.R.; HUGHES, H.; VIRIYANONDHA, S. Storage, distribution, and metabolism of 1,1-bis (4-chlorophenyl) 2,2,2-trichloroethanol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v.15, p.30-7, 1969.

CHAPIN, R.E, STEVENS, J.T., HUGHES, C.L. et al. Endocrine modulation of reproduction. *Fundamental and Applied Pharmacology*, v.29, p.1-17, 1996.

CHERNOFF, N; ROGERS, J.M.; TURNER, C.I.; et al. Significance of supernumerary ribs in rodent developmental toxicity studies: postnatal persistence in rats and mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, v.17, p.448-453, 1991.

CHERNOFF, N.; SETZER, R.W.; MILLER, D.B.; et al. Effects of chemically induced maternal toxicity on prenatal development in the rat. *Teratology*, v.42, p.651-658, 1990.

COOPER, R.L., KAVLOCK, R.J. Endocrine disruptors and reproductive development: a weight-of-evidence overview. *Journal of Endocrinology*, v.152, p.159-166, 1997.

CUNHA, J.M.; MASUR, J. Evaluation of psychotropic drugs with a modified open field test. *Pharmacology*, v.16, p.259-267, 1978.

DAHLÖF, L.; HÅRD, E.; LARSSON, K. Influence of maternal stress on the development of the fetal genital system. *Physiol Behav*, v.20, p.193-195, 1978.

DENENBERG, V.H. Open-field behavior in the rat: what does it mean? *Ann New York Acad. Sci.*, p.852-859, 1969.

DeSESSO, J.M. Maternal factors in developmental toxicity. *Teratog Carcinog Mutagen*, v.7, p.225-40, 1987.

ECOBICHON, D.J. Toxic effects of pesticides. In: KLAASSEN, C.D. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. New York: McGraw-Hill, 1996. p.643-689.

EDWARDS, C.R.; BENEDIKTSSON, R.; LINDSAY, R.S. et al. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenases: key enzymes in determining tissue-specific glucocorticoids effects. *Steroids*, v.61, p.263-269, 1996.

EDWARDS, H.E.; BURNHAM, W.M. The impact of corticosteroids on the developing animal. *Pediatric Research*, v.50, p.433-440, 2001.

EMANUELLE, N.; EMANUELLE, M.A. The endocrine system: alcohol alters critical hormonal balance. *Alcohol Health Research World*, v.21, p.53-64, 1997.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Prenatal Developmental Toxicity Studies. Health Effects Guidelines: 870.3700, EPA, 1998.

EVANGELISTA DE DUFFARD, A.M.; DUFFARD, R. Behavioral toxicology, risk assessment, and chlorinated hydrocarbons. *Environ Health Perspect*, v.104, p.353-60, 1996.

EUKLER, J.S.; RIEGLE, G.D. Effects of stress on pregnancy in the rat. *J. Reprod. Fert.*, v.34, p.343-346, 1973.

FAGGIN, B.M. *Efeitos do isolamento no desenvolvimento de tolerância ao barbital sódico*. São Paulo, 1982. 142p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

FRANKOVA, S. Relationship between nutrition during lactation and maternal behaviour of rats. *Act Nerv Super (Praha)*, v.13, p.1-8, 1971.

FREDERIKSEN, M.C. Physiologic changes in pregnancy and their effect on drug disposition. *Semin Perinatol.*, v.25, p.120-3, 2001.

FRIDE, E.; WEINSTOCK, M. The effects of prenatal exposure to predictable or unpredictable stress on early development in the rat. *Dev. Psychobiol.*, v.17, 651-660, 1984.

FRIDE, E.; DAN, Y.; GAVISH, M. et al. Prenatal stress impairs maternal behavior in a conflict situation and reduces hippocampal benzodiazepine receptors. *Life Sci.*, v.36, p.2103-2109, 1985.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Vigilância epidemiológica de doenças e agravos específicos. In: \_\_\_\_ *Guia de vigilância epidemiológica*, 4 ed., p.1-17, 1998.

FUJIOKA, T.; SAKATA, Y.; YAMAGUCHI, K.; et al. The effects of prenatal stress on the development of hypothalamic paraventricular neurons in fetal rats. *Neuroscience*, v.92, p.1079-1088, 1999.

GOLDMAN, A.S.; YAKOVAC, W.C. The enhancement of salicylate teratogenicity by maternal immobilization in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, v.142, p.351-357, 1963.

GUO, A.; NAPPI, R.E.; CRISCUOLO, M.; et al. Effect of chronic intermittent stress on rat pregnancy and postnatal development. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v.51, p.41-45, 1993.

GUTIERREZ, J.; ALVAREZ-ORDAS, I.; ROJO, M.; et al. Reproductive function and sexual behaviour in female rats exposed to immobilization stress of ACTH injections during gestation. *Physiol. Bohemoslov.*, v.38, p.13-20, 1989.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Functional Organization of the Human Body and Control of the Internal Environment. In: \_\_\_\_ Textbook of medical physiology. W.B. Saunders Company, 9ed., 1996. p.3-9.

HERLENIUS, E.; LAGERCRANTZ, H. Neurotransmitters and neuromodulators during early human development. *Early Hum Dev*, v.65, p.21-37, 2001.

HERRENKOHL, L.R. Prenatal stress reduce fertility and fecundity in female offspring. *Science*, v.1, p.1097-9, 1979.

HOLLADAY, S.D.; LUSTER, M.I. Developmental Immunotoxicology. In: KIMMEL, C.A.; BUELKE-SAM, J. (eds). *Developmental Toxicology*. 2ed. New York: Raven Press, 1994. p.93-117.

HOOKER, D. The prenatal origin of behavior. Kansas: University Press, 1952 apud ALTMAN, J.; SUDARSHAN, K. Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim. Behav.*, v.45, p.1033-1041, 1989.

HULTMAN, C.M.; OHMAN, A.; CNATTINGIUS, S.; et al. Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *Br J Psychiatry*, v.170, p.128-133, 1997.

HUIZINK, A.C.; MULDER, E.J.H.; BUITELAAR, J.K. Prenatal stress and risk for psychopathology early or later in life: specific effects or induction of general susceptibility ? In: HUIZINK, A.J. *Prenatal stress and its effect on infant development*. Nederlands: Studio van Westervoort, 2000. p.1-67.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATABASE. Dicofol. TOXNET, N.L.M.'s Toxicology Data Network, 2000.

INSEL, T.R.; KINSLEY, C.H.; MANN, P.E.; et al. Prenatal stress has long-term effects on brain opiate receptors. *Brain Res.*, V.511, p.93-97, 1990.

IYER, P. Developmental and reproductive toxicology of pesticides. In: KRIEGER, R.I. (ed.). *Handbook of pesticide toxicology*. Volume I. principles. Academic Press, p.375, 2001.

IYANIWURA, T.T. Health and environmental hazards of pesticides. *Rev Environ Health*, v.9, p.47-52, 1991.

JADARAMKUNTI, U.C.; KALIWAL, B.B. Effect of dicofol formulation on estrous cycle and follicular dynamics in albino rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, v.10, p.305-14, 1999.

JADARAMKUNTI, U.C.; KALIWAL, B.B. Possible mechanisms for the anti-implantation action of dicofol in albino rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, v.12, p.217-26, 2001.

JADARAMKUNTI, U.C.; KALIWAL, B.B. Dicofol formulation induced toxicity on testes and accessory reproductive organs in albino rats. *Bull. Environ, Contam. Toxicol.*, v.69, p.741-748, 2002.

---



KAVLOCK, R.J.; et al. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the US EPA-sponsored workshop. *Environmental Health Perspectives*, v.104 (suppl 4), p.715-740, 1996.

KELCE, W.R.; et al. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, v.375, p.581-585, 1995.

KHERA, K.S. Maternal toxicity: a possible factor in fetal malformation in mice. *Teratology*, v.29, p.411-416, 1984.

KOFMAN, O. The role of prenatal stress in the etiology of developmental behavioural disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.26, p.457-470. 2002.

KOOLHAAS, J.M.; BAUMANS, V.; BLOM, H.J.M.; et al. Behaviour, stress and well-being. In: VAN ZUTPHEN, L.F.M.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A.C. (ed.). *Principles of Laboratory Animal Science*, Amsterdam: Elsevier, revised edition, 2001, p.77-102.

LAU, C.; KAVLOCK, R.J. Functional toxicity in the developing heart, lung, kidney. In: KIMMEL, C.A.; BUELKE-SAM, J. (eds). *Developmental Toxicology*. 2ed. New York: Raven Press, 1994. p.119-188.

LEMONICA, I.P. Embriofetotoxicidade. In: OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo, 2003, p.92-99.

LEMONICA, I.P. & ALVARENGA, C.M.D. Embriotoxicity of dicofol administered on preimplantation period of pregnant rats. *Teratology*, v.51(6), p.26A, 1995.

LEMONICA, I.P.; MOURA, E.C.V.; PADOVANI, C.R. Teratogenicity and reproductive performance of normal and malnourished rats exposed to dicofol. *Teratology*, v.48, p.28A, 1993.

MANSON, J.M., KANG, Y.J. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: HAYES, A.W. *Principles and Methods of Toxicology*. New York: Raven Press Ltd., New York, 1994, p.989-1037.

MEANEY, M.J.; BHATNAGAR, S.; LAROCQUE, S.; et al. Individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response and the hypothalamic CRF system. *Ann N Y Acad Sci*, v.697, p.70-85, 1993.

MENENDEZ-PATTERSON, A.; FERNANDEZ, S.; MARIN, B. In utero immobilization stress and its effects on the development, behavior and sexual maturity of the rat. *Rev. Esp. Fisiol.*, v.38, p.433-439, 1982.

MORGAN, C.T. Comportamento Instintivo. In: \_\_\_\_ *Psicologia Fisiológica*. São Paulo: EPU, 1973. p.537-563.

MOYER, J.A.; HERRENKOHL, I.R.; JACOBOWITZ, D.M. Stress during pregnancy: effect of catecholamines in discrete brain regions of offspring as adults. *Brain Res.*, v.144, p.173-178, 1978.

MULDER, E.J.H.; VISSER, G.H.A. Braxton Hick's contractions and motor behavior in the near-term fetus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.156, p.543-549, 1987.

NILSSON, R. Endocrine modulators in the food chain and environment. *Toxicol Pathol*, v.28, p.420-31, 2000.

NUNES, M.V; TAJARA, E.H. Efeitos tardios dos praguicidas organoclorados no homem. *Rev Saúde Pública*, v.32, p.372-382, 1998.

OLAZABAL, D.E.; FERREIRA, A. Maternal behavior in rats with kanic acid-induced lesions of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Physiol. Behav.*, v.61, p.779-784, 1997.

OLIVERIO, A. Neurochemical and behavioral responses to stress. *Pol. J. Pharm.*, v.40, p.489-495, 1988.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Repeat-Dose Toxicity Studies*. OECD Series on Testing and Assessment Number 32 and OECD Series on Pesticides Number 10, 2001, 103p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies*. OECD Series on Testing and Assessment Number 35 and OECD Series on Pesticides Number 14, 2002, 112.

PACÁK, K.; PALKOVITS, M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine Reviews*, v.22, p.502-548, 2001.

PATIN, V.; LORDI, B.; VINCENT, A.; et al. Effects of prenatal stress on maternal behavior in the rat. *Brain Res Dev*, v.139, p.1-8, 2002.

PETERS, D.A. Maternal stress increases fetal brain and neonatal cerebral cortex 5-hydroxytryptamine synthesis in rats: a possible mechanism by which stress influences brain development. *Pharmacol Biochem Behav.*, v.35, p.943-947, 1990.

PETRAGLIA, F.; FLORIO, P.; NAPPI, C. et al. Peptide signaling in human placenta and membranes: autocrine, paracrine, and endocrine mechanisms. *Endocr. Rev.*, v.17, p.156-186, 1996.

PITMAN, D.L.; OTTENWELLER, J.E.; NATELSON, B.H. Plasma corticosterone levels during repeated presentation of two intensities of restraint stress: chronic stress and habituation. *Physiol. Behav.*, v.43, p.47-55, 1990 1988???

PLIMMER, J.R. Chemistry of pesticides. In: KRIEGER, R.I. (ed.). *Handbook of pesticide toxicology*. Volume I. principles. Academic Press, p.95-??, 2001.

POLISHUK, Z.W.; WASSERMANN, M.; WASSERMAN, D.; et al. Effects of pregnancy on storage of organochlorine insecticides. *Arch Environ Health*, v.20, p.215-217, 1970.

RASENBERG, M.H.C. *Dicofol*. Dossier prepared for the meeting March 17-19 in Norway of the UM-ECE Ad-hoc Expert Group on POPs. Ministry of VROM/DGM, January 2003. 34p.

RIEGLE, G.D. Chronic stress effects on adrenocortical responsiveness in young and aged rats. *Neuroendocrinology*, v.11, p.1-10, 1973.

RIVIER, C.; VALE, W. Diminished responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the rat during exposure to prolonged stress: a pituitary-mediated mechanism. *Endocrinology*, v.121, p.1320-8, 1987.

ROBERTS, T.; HUTSON, D.H. *Dicofol*. In: \_\_\_\_ *Metabolic pathways of agrochemicals*. Part 2: Insecticides and fungicides. The Royal Society of Chemicals, Cambridge, p.159-160, 1999.

RODIER, P.M.; COHEN, I.R.; BUELKE-SAM, J. Developmental neurotoxicology: Neuroendocrine manifestations of CNS insult. In: KIMMEL, C.A.; BUELKE-SAM, J. (eds). *Developmental Toxicology*. 2ed. New York: Raven Press, 1994. p.65-92.

ROGERS, J.M.; KAVLOCK, R.J. Developmental Toxicology. In: KLAASSEN, C.D. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. New York: McGraw-Hill, 1996. p.301-331.

ROJO, M.; MARIN, B.; MENENDEZ-PATTERSON, A. Effects of low stress during pregnancy on certain parameters of the offspring. *Physiol. Behav.*, v.34, p.895-899, 1985.

SALEWSKY, E. Farbermethode zum makroskopischen nachweis von implantatcosstellen am uterus der ratter naunyn schmuderbeys. *Arch. Pharmacol.*, v.247, p.367, 1964.

---

SHONO, T.; IMAJIMA, T.; ZAKARIA, O.; et al. Does maternal stress induce abnormal descent of the testis in prepubertal rats? *BJU Int*, v.84, p.353-356, 1999.

SIEGEL, S. *Estatística não-paramétrica (para ciências do comportamento)*. São Paulo: Mc Graw-Hill do Brasil Ltda, 1975. 350p.

SMITH, A.G. DDT and its Analogs. In: KRIEGER, R. (ed.) *Handbook of Pesticide Toxicology*. Volume 2 – Agents. Academic Press, 2001. p.1305-????.

SMYTHE, J.W.; McCORMICK, C.M.; MEANEY, M.J. Median eminence corticotrophin-releasing hormone content following prenatal stress and neonatal handling. *Brain Research Bulletin*, v.40, p.195-199, 1996.

SODERSTEIN, P.; ENEROTH, P. Effects of exposure to pups on maternal behaviour, sexual behaviour and serum prolactin concentrations in male rats. *J. Endocr.*, v.102, p.115-119, 1984.

STAPLES, R.E. & SCHENELL, V.L. Refinements in rapid clearing technic in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technology*, v.39, p.61-3, 1964.

STOHR, T.; SCHULTE WERMELING, D.; SZURAN, T., et al. Differential effects of prenatal stress in two inbred strains of rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v.59, p.799-805, 1998.

STOTT, D.H. Follow-up study from birth of the effects of prenatal stresses. *Develop. Med. Child Neurol.*, v.15, p.770-87, 1973.

TAKAHASHI, L.K.; TURNER, J.G.; KALIN, N.H. Prolonged stress-induced elevation in plasma corticosterone during pregnancy in the rat: implications for prenatal stress studies. *Psychoneuroendocrinology*, v.23, p.571-581, 1998.

TOMLIM, C. *The e-Pesticide Manual (Twelfth Edition) Version 2.0*. British Crop Protection Council, 2000.

VELARDO, J.T. Action of adrenocorticotropin on pregnancy and litters size of rats. *Am J Physiol*, v.191, p.319-22, 1957.

VELAZQUEZ-MOCTEZUMA, J.; SALAZAR, E.D.; RUEDA, M.L.C. The effect of prenatal stress on adult sexual behavior in rats depends on the nature of the stressor. *Physiol. Behav.*, v.53, p.443-448, 1993.

VIEIRA, S. *Introdução à Bioestatística: revisada e ampliada*. Rio de Janeiro: Câmpus, 1991. 203p.

WARD, I.L. Prenatal stress feminizes and desmasculinizes the behavior of males. *Science*, v.175, p.82-84, 1972.

WARD, G.R.; WAINWRIGHT, P.E. Reductions in maternal food and water intake account for prenatal stress effects on neurobehavioral development in B6D2F2 mice. *Physiol. Behav.*, v.44, p.781-786, 1988.

WEINSTOCK, M.; POLTYREV, T.; SCHORER-APELBAUM, D.; et al. Effect of prenatal stress on plasma corticosterone and catecholamines in response to footshock in rats. *Physiol Behav.*, v.64, p.439-444, 1998.

WEINSTOCK, M. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. *Prog. Neurobiol.*, v.65, p.427-451, 2001.

WIKTELIUS, S.; EDWARDS, C.A. Organochlorine insecticide residues in African Fauna: 1971-1995. *Rev Environ Contam Toxicol*, v.151, p.1-37, 1997.

WILLIAMS, M.T.; DAVIS, H.N.; McCREA, A.E.; HENNESSY, M.B. The distribution of radiolabeled corticotropin-releasing factor in pregnant rats: an investigation of placental transfer to the fetuses. *Int J Dev Neurosci*, v.16, p.229-234, 1998.

WILLIAMS, M.T.; DAVIS, H.N.; MCCREA, A.E.; et al. Changes in the hormonal concentrations of pregnant rats and their fetuses following multiple exposures to a stressor during the third trimester. v.21, p.403-414, 1999.

WILSON, J.C. Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animal. In: WILSON, J.C.; WARKANY, J. *Teratology: Principles and Techniques*. Chicago: Univ. Chicago Press, 1965. P.262-327.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Dicofol*. Pesticide Residues Series 4, 1974.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Pesticide Residues in Food – 1992 Evaluations Part II, Toxicology*. Document WHO/PCS/93.34, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO/FAO Data Sheets on Pesticides No.81. Dicofol*. INCHEM, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Principles for evaluating health risks to reproduction associated with exposure to chemicals. Environmental Health Criteria 225*. Geneva, 2001.

ZARROW, M.X.; PHILPOTT, J.E.; DENENBERG, V.H. Passage of the <sup>14</sup>C-corticosterone from the rat mother to the foetus and neonate. *Nature*, v.226, p.1058-1059, 1970.