

Efeito do Antimoniato de Meglumina durante o período fetal sobre o desenvolvimento físico da prole em camundongos

Effect of the Meglumine Antimoniate during fetal period on physical development of pups in mice

MICHELLE RODRIGUES DOS SANTOS¹
SILVANE SOUZA ROMAN²

RESUMO

A exposição a agentes químicos durante a prenhez pode alterar o desenvolvimento animal e a maturação dos sistemas fisiológicos. O Antimoniato de Meglumina (AM) é a primeira escolha no tratamento das leishmanioses, mesmo apresentando toxicidade e suposta impregnação neural. *Objetivo:* O objetivo deste estudo foi verificar o desenvolvimento físico da prole de camundongos Swiss, expostos ao AM durante o período fetal. *Material e método:* Fêmeas prenhes foram tratadas com AM (100mg/kg/dia) durante o 13º ao 18º dia de gestação – ddg e o grupo controle foi tratado com o veículo. No dia zero pós-natal - dpn foi registrado o número e peso da prole de cada ninhada e avaliou-se o desenvolvimento físico (nascimento de pêlos, abertura de olhos e orelhas, dente incisivo, abertura da vagina e descida dos testículos) do 0 ao 31º dpn. Os filhotes foram pesados no 3º, 5º, 7º, 14º e 21º dpn. *Resultados:* Não houve diferenças significativas no número e peso da prole no 0 dpn entre os grupos experimental e controle. O desenvolvimento ponderal da prole de ambos os grupos foi semelhante, assim como o aparecimento dos indicadores de desenvolvimento físico. *Conclusão:* A exposição ao AM durante o período fetal em camundongos não interferiu no desenvolvimento físico das crias.

DESCRIPTORIOS

Leishmaniose. Antimônio. Meglumina. Toxicidade de Drogas.

SUMMARY

The exposition to the chemical agents during the pregnant can alter the animal development and the maturation of the physiological systems. The Meglumine antimoniate (MA) is the first-choice of treatment of leishmaniosis same presented toxicity and supposed neural impregnation. *Objective:* The aim this work was verify the physical developmental of the pups of Swiss mice exposed to MA during the fetal period. *Material and methods:* Pregnant dams received MA (100mg/kg/day) during day 13º to 18º of gestation – ddg. Control group received deionized water. At birth day (0 postnatal – dpn) the number and corporal weight of the pups of each litter was registered. The corporal weight of the pups was realized on day 3º, 5º, 7º, 14º and 21º postnatal. Physical development was assessed by monitoring daily on the 0 to 31º dpn the following parameters in 16 litters: birt of pilus, eye opening, ear unfolding, incisor eruption, vagina opening and descent of the testis. *Results:* No statistic difference was observed in the number and corporal weight between the experimental and control pups at 0 dpn. *Conclusion:* The ponderal development of the pups of both the groups was similar, as well the appearance of indicators of the physical development. The maternal exposition in mice to MA throughout the fetal period did not interfere in the physical development of the pups.

DESCRIPTORS

Leishmaniasis. Antimony. Meglumine. Drug Toxicity.

1 Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missoes - URI - Campus de Erechim. Curso de Fisioterapia/Departamento de Ciências da Saúde.

2 Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missoes - URI - Campus de Erechim. Curso de Farmácia/Departamento de Ciências da Saúde.

A leishmaniose é uma doença infecciosa de evolução crônica que pode acometer pele, mucosa e vísceras (COTRAN *et al.*, 1996). Esta parasitose ocorre na Ásia, Europa, África e Américas, sendo que existem relatos sobre a doença, no continente americano, desde a época colonial (RATH *et al.*, 2003) e afeta vários animais silvestres e domésticos, sendo o homem como hospedeiro secundário (RODRIGUES *et al.*, 2006). A leishmaniose é transmitida do animal para o homem e entre os seres humanos pela picada do mosquito conhecido como flebotomíneo (LINDEMANN *et al.*, 2000).

O Norte e o Nordeste do Brasil detêm a maioria dos casos de leishmaniose. No entanto a doença tem se manifestado em outras regiões do país, causando preocupação por se tratar de uma zoonose (GONTIJO, MELO, 2004).

A partir da década de 1980, houve aumento significativo no número de casos, acometendo novas áreas geográficas e de comportamento endêmico, atingindo homens, mulheres e crianças de todas as faixas etárias, na periferia de centros urbanos (SILVA, CUNHA, 2007).

Os compostos antimoniais, na forma de sais pentavalentes, são as drogas de primeira escolha no tratamento das leishmanioses em todo mundo, embora como derivados de metais pesados, estes fármacos sejam, em geral, extremamente tóxicos e irritantes (BERMAN *et al.*, 1997).

Apesar de estar no mercado há muito tempo, a toxicidade reprodutiva dos antimoniais pentavalentes, representa um aspecto relevante de seu perfil toxicológico que precisa ser mais bem investigado (RATH *et al.*, 2003).

No Brasil, o medicamento à base de antimônio utilizado como escolha na terapêutica da leishmaniose é o Antimoniato de Meglumina. O composto é obtido sinteticamente, a partir do ácido antimônico e da N-metil glucamina, sendo a última obtida previamente a partir da aminaçãõ redutora de glicose em presença de metilamina (RATH *et al.*, 2003). Sabe-se que o número de mulheres gestantes com leishmanioses, principalmente a forma visceral, se tornam freqüentes, e estudos nesse grupo, em especial, ainda são escassos e existem controvérsias sobre a segurança da administração de Antimoniato de Meglumina durante o período gestacional (FIGUEIRÓ-FILHO *et al.*, 2005).

MIRANDA *et al.* (2006), realizou um estudo de cinética do Antimoniato de Meglumina durante a gestação e conclui que doses repetidas de Antimoniato de Meglumina causam uma gradual acumulação de Sb^v

no organismo materno. Quanto à concentração de Sb^v nos fetos, removidos por cesariana no 21º dia de gestação, 24 horas após a última dose variou de 10 a 15 ug/g, demonstrando, dessa forma, a passagem transplacentária do Antimoniato de Meglumina.

Segundo PAUMGARTTEN, CHAHOUD (2001) ratas tratadas com 300 mg Sb^v/kg/dia durante todo período gestacional (20 dias), apresentaram malformações ósseas e também malformações viscerais, essas alterações são consideradas indicativos de teratogenicidade. Porém, quando se administrou três doses de 300mg Sb^v/kg em um único dia, no 11º dgd, não se observou efeitos embriofetotóxicos.

Estudo realizado com Antimoniato de Meglumina na dose de 100mgSb^v/kg/dia, em camundongos, apresentou embriofetotoxicidade e morfologia placentária alterada quando administrado no período de organogênese e fetal; sugerindo-se ação do medicamento na desestruturação das camadas da placenta, podendo causar alterações de funcionabilidade e, por conseguinte, podendo agir no organismo embriofetal (NAVA, ROMAN, 2006).

Com o objetivo de avaliar o efeito cumulativo do Antimoniato de Meglumina sobre a prole de camundongos Swiss analisando a transferência materno-fetal na geração F1 (prole de matrizes expostas ao fármaco), e conseqüências em progênies F2, SANTOS *et al.*, (2008) trataram camundongos fêmeas com Antimoniato de Meglumina durante a organogênese (7º ao 12º dia de gestação), na dose equivalente a 100mgSb^v/kg peso/dia; de modo que não foi observado alteração no ciclo estral dos animais tratados, pelo fato de não alterar o intervalo precoal e o índice de fertilidade. Da mesma forma o Antimoniato de Meglumina não alterou a performance reprodutiva das mães expostas cronicamente e não foram observadas alterações placentárias em progênies F2.

Baseado nestas evidências de toxicidade do Antimoniato de Meglumina nos chama a atenção que ainda existam autores que consideram o antimônio pentavalente a droga de escolha para o tratamento da leishmaniose visceral em gestantes a partir do 2º trimestre, na posologia de 850mg/dia por 20 dias (UTILLI *et al.*, 1995). Enquanto que CALDAS *et al.*, (2003), contra-indica sua utilização em gestantes, por ultrapassarem a barreira placentária podendo causar impregnação neural com desenvolvimento de retardo mental nos recém-nascidos. Neste caso, é necessário ter cautela na utilização deste medicamento durante a gestação e lactação. Devido às peculiaridades dos mamíferos, a maior parte do desenvolvimento do SNC

ocorre no período fetal e nos primeiros estágios após o parto (GUERRA, 2003). A exposição perinatal a substâncias químicas pode acarretar em distúrbios físicos e comportamentais após o nascimento, com prejuízos no ganho de peso corporal e na maturação dos sistemas fisiológicos (MELLO *et al.*, 1998; CASTRO, 2006^a).

As avaliações sobre o desenvolvimento animal freqüentemente incluem observações quanto ao aparecimento de sinais físicos e os aspectos referentes ao desenvolvimento neurocomportamental. Ambas avaliações são usadas para identificar as alterações causadas por exposições pré e/ou pós-natal a compostos tóxicos (CASTRO, 2006^a).

No presente trabalho tem-se por objetivo avaliar o desenvolvimento físico da prole de camundongos *Swiss*, expostos ao Antimoniato de Meglumina durante o período fetal (13^o ao 18^o ddg), no qual ocorre a maturação fisiológica dos múltiplos sistemas.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental, prospectivo e controlado, no qual foram utilizados 16 camundongos *Swiss* prenhes, oriundos do Laboratório de Experimentação Animal da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - Campus de Erechim, pesando entre 25 e 45g, oriundos do biotério da URI - Campus de Erechim. Os animais foram mantidos em ambiente adequado, com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa $50 \pm 5\%$ e em um ciclo de 12 horas claro/escuro, com água e ração à vontade. O projeto com registro n^o. 118/PPA/06 foi aprovado pelo CEP/URI - Campus de Erechim, RS e foram seguidos os

princípios éticos de experimentação animal estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA).

Foi utilizado o Antimoniato de Meglumina 300mg/ml (Glucantime®, Aventispharma, lote 206305, ampolas de 5ml), adquirido comercialmente, contendo aproximadamente 85mg Sb^v/ml. Realizou-se uma diluição 1:10 do medicamento, a fim de facilitar a administração. O medicamento foi administrado diariamente, via subcutânea (1,2 ml/kg peso corporal) equivalente a uma dose de 100 mg Sb^v/kg peso/dia, durante 6 dias, num total de 600 mg/kg. Esta dose equivale à terapêutica (20 mg/kg/dia) por 30 dias.

Camundongos prenhes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos: experimental e controle, composto por 9 animais cada. O grupo experimental recebeu Antimoniato de Meglumina, durante o período fetal (13^o ao 18^o dia de gestação - ddg). O grupo controle foi tratado com água destilada (veículo) na mesma proporção e período gestacional estabelecido.

Após o nascimento da prole foi registrado o número e peso da prole de cada ninhada e todos os filhotes foram avaliados quanto ao desenvolvimento físico (nascimento de pêlos, abertura de olhos, desdobraimento das orelhas, erupção dos dentes incisivos, abertura da vagina e descida dos testículos) do 0 ao 31^o dia pós-natal - dpn. Todos os filhotes foram pesados no 3^o, 5^o, 7^o, 14^o e 21^o dpn.

No final do experimento, os animais controles e experimentais foram eutanasiados por câmara de CO₂ e após encinerados.

Para análise estatística dos resultados utilizou-se o teste-t student para duas amostras presumindo variâncias equivalentes com nível de significância de $p < 0,05$.

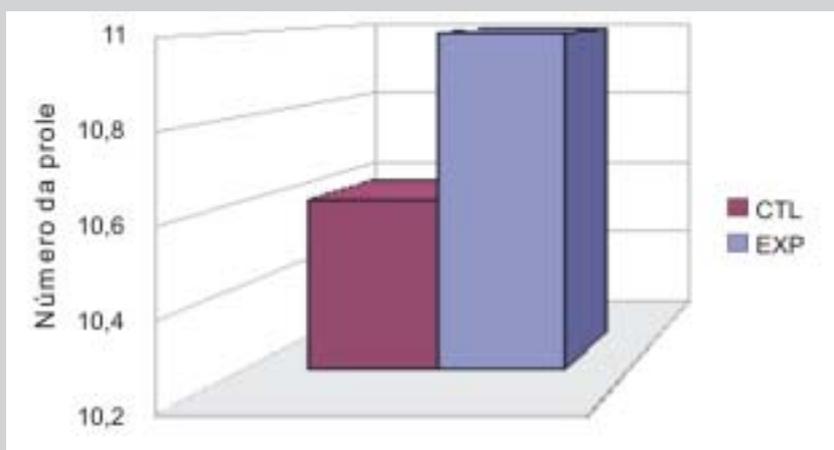


Figura 1. Número da prole dos animais experimentais e controle no dia zero pós-natal.

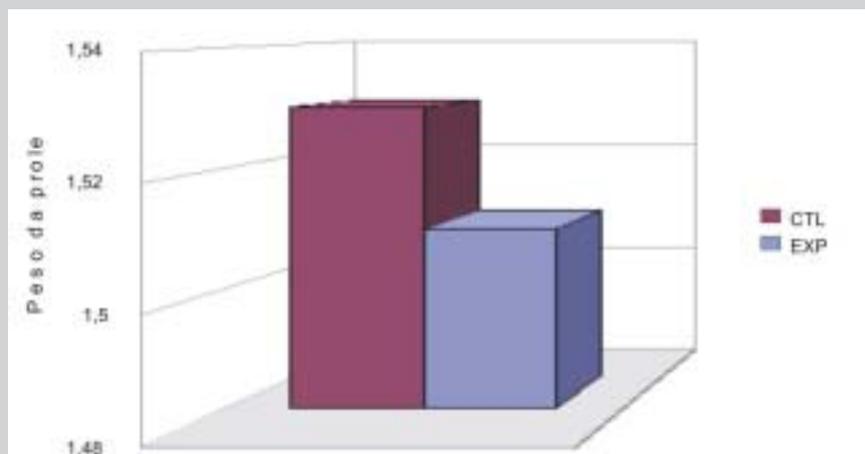


Figura 2: Peso ao nascimento da prole dos animais experimentais e controle.

RESULTADOS

O número e o peso da prole ao nascimento, não diferiu entre os animais experimentais e controle, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

O desenvolvimento ponderal da prole do grupo experimental não demonstrou diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo controle, indiferente do sexo da prole (Tabela 1).

Os parâmetros relacionados ao aparecimento dos indicadores de desenvolvimento físico estão expressos na Tabela 2, não havendo diferença estatisticamente significativa dos parâmetros avaliados.

DISCUSSÃO

Segundo BERNARDI (2002), no período fetal

todos os tecidos já estão formados, os fetos se desenvolvem e alguns sistemas sofrem maturação. O feto é menos vulnerável aos efeitos teratogênicos de drogas, vírus e radiação, mas estes fatores podem interferir com o desenvolvimento funcional normal, sobretudo do cérebro e dos olhos.

A ausência de diferença estatisticamente significativa no número da prole dos grupos controle e experimental pode ser explicada pelo fato de que a exposição materna a agentes tóxicos no período fetal pode levar a anormalidades morfológicas menores e funcionais, sem necessariamente interferir no peso e número da prole; o que é sustentado por KIMMEL (1998); CHELONIS *et al.*, (2004) e COSTA *et al.*, (2004), que descrevem que a exposição de fêmeas a agentes químicos durante a prenhez e a lactação pode causar alterações de acordo com a ocorrência de períodos críticos no desenvolvimento animal. A exposição

Tabela 1: Peso da prole fêmeas e machos de mães tratadas com o Antimoniato de Meglumina e controles durante o período fetal.

Grupos	Sexo	Peso corporal (g)/Dias pós-natal				
		3	5	7	14	21
Controle	F	2,30 ± 0,4*	3,21 ± 0,7	4,16 ± 0,9	6,81 ± 0,9	10,0 ± 1,8
	M	2,34 ± 0,3	3,27 ± 0,7	4,19 ± 0,9	6,87 ± 0,9	10,0 ± 1,8
Experimental	F	2,31 ± 0,2	3,18 ± 0,3	4,25 ± 0,4	6,64 ± 0,3	9,71 ± 0,6
	M	2,30 ± 0,2	3,14 ± 0,3	4,19 ± 0,4	6,70 ± 0,5	9,74 ± 0,8

*Resultado expresso em média ± desvio padrão; F=fêmea; M=macho

Tabela 2: Tempo médio (dias) para o aparecimento das características de desenvolvimento de filhotes de camundongos do grupo experimental e controle.

Indicadores de desenvolvimento físico	Controle (n=36)	Experimental (n=36)
Nascimento de pêlos	5,4 ± 1,6*	5,6 ± 0,8
Desdobramento das orelhas	5,3 ± 1,5	5,2 ± 0,6
Erupção dos incisivos	10,8 ± 1,0	11,6 ± 0,5
Abertura de olhos	15,5 ± 1,4	15,4 ± 1,5
Descida dos testículos	25 ± 1,8	24,8 ± 2,0
Abertura vaginal	29,6 ± 7,0	24,5 ± 4,8

*Resultado expresso em média ± desvio padrão; n=número de animais

perinatal pode envolver efeitos latentes, observáveis tardiamente, que se manifestam após um estímulo ambiental mesmo nos casos em que a exposição ocorra em doses menores que aquelas que promovem efeitos evidentes em adultos.

O número e peso das proles ao nascimento não diferiram entre os grupos estudados, e pode-se observar que estão dentro dos parâmetros de normalidade, já que segundo SALGADO, MICHELIN, CHORILLI (2007) os camundongos apresentam o tamanho das ninhadas correspondentes a 10-12 filhotes, os quais ao nascer pesam em torno de 1-2g (média 1,5g).

O período neonatal tem seu início ao nascimento da prole, sendo finalizado com o término da lactação. Nesse período ocorrem a maturação funcional e o ganho de peso corporal, peso este que pode sofrer redução com a exposição do filhote a substâncias químicas, bem como desordens funcionais e carcinogênese. Existem também evidências de que a excreção pelo leite pode alterar o desenvolvimento pós-natal, de forma tal que algumas dessas alterações possam perdurar até a idade adulta (CASTRO, 2004).

Deste modo pode-se inferir que a exposição de camundongos ao Antimoniato de Meglumina durante o período fetal não interferiu no ganho de peso das crias no período pós-natal, já que o peso corporal dos filhotes aumentou, ao longo do período do experimento, e não houve diferença significativa entre os grupos experimental e controle, indiferente do sexo da prole.

A diferença entre machos e fêmeas no comportamento espontâneo ou induzido por droga também é um fator importante que vem sendo estudado cuidadosamente nos últimos anos. Já estão bem estabelecidas diferenças sexuais com relação ao metabolismo, neuroanatomia, endocrinologia, bioquímica e comportamento (BEATTY *et al.*, 1982; McCARTNEY *et al.*, 1999; TROPP,

MARKUS, 2001; WALKER *et al.*, 2001; HUGHES, 2001; HU *et al.*, 2004).

O desenvolvimento físico pós-natal é medido não só pelo crescimento, mas por indicadores físicos, característicos da maturação progressiva, que vão se estabelecendo, progressivamente, com a idade do animal (GUERRA *et al.*, 2002). A observação da presença ou ausência dos parâmetros de desenvolvimento físico é realizada de acordo com a idade do filhote e por determinado número de dias consecutivos até o aparecimento do parâmetro estudado em todos os filhotes avaliados; o que ocorre geralmente entre o 1° e o 26° dias de vida pós-natal (CASTRO, 2006a).

Como não houve diferença significativa no tempo de vida em que os sinais de desenvolvimento físico ocorreram no grupo experimental e controle, pode-se admitir que a administração do Antimoniato de Meglumina durante o período fetal não alterou o desenvolvimento físico da prole.

Ao nascer, os camundongos carecem totalmente de pêlos, exceto bigodes. Sua pele vai clareando ou escurecendo de acordo com a linhagem, sendo que uma penugem começa a aparecer por volta do 3° ou 4° dia, com posterior aparecimento de pêlos por volta dos 5° ao 8° dias de vida. Com três dias, as orelhas se afastam da cabeça, e abre o canal auditivo em torno dos 10 a 14 dias de vida. Com aproximadamente 12 a 15 dias de vida ocorre a abertura dos olhos. A erupção do dente incisivo inicia aproximadamente dos 4 a 8 dias de vida. O camundongo torna-se apto à reprodução aos 60 dias de idade, sendo que os efeitos hormonais iniciais já estão presentes em ambos os sexos ao redor dos 30 dias de idade, evidenciando-se através da abertura da vagina nas fêmeas (26 a 36 dias de vida) e aumento dos testículos nos machos (20 a 26 dias de vida) (SALGADO, MICHELIN, CHORILLI, 2007 e CASTRO, 2006b).

No modelo experimental usado, a exposição ao Antimoniato de Meglumina durante o período fetal não alterou o desenvolvimento físico das crias, uma vez que não alterou o peso e número da prole ao nascimento, não prejudicou o desenvolvimento ponderal da prole e o aparecimento das características evolutivas não mostraram diferenças entre o grupo experimental e controle.

Mais estudos se faz necessário para avaliar a temática proposta, a fim de promover mais credibilidade dos resultados, uma vez que dados de desenvolvimento físico de modo isolado, são insuficientes para inferir sobre a interferência da exposição ao Antimoniato de Meglumina durante a gestação sobre o desenvolvimento da prole.

REFERÊNCIAS

1. BEATTY WW, DODGE AM, TRAYLOR KL. Stereotyped behavior elicited by amphetamine in the rat: influences of the testes. *Pharmacology and Biochemistry Behavior*. 16: (4) 565-568, 1982.
2. BERMAN JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis*. 24:(4) 684-703, 1997.
3. BERNARDI MM. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal. In: SPINOSA, H.S. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 691-699.
4. CALDAS AJ, COSTA JM, GAMA ME, RAMOS EA, BARRAL A. Visceral leishmaniasis in pregnancy: a case report. *Acta Trop*. 88: (1) 39-43, 2003.
5. CASTRO VLSS. Estudo experimental em ratos da interação mãe-filhote expostos a agroquímicos. *Embrapa Meio Ambiente (Documento)*; 51: Jaguariúna, 2006^a.
6. CASTRO VLSS. Biomarcadores e desenvolvimento neurocomportamental: aspectos experimentais. *Embrapa Meio Ambiente (Circular Técnica)*; 13: Jaguariúna, 2006^b.
7. CASTRO VLSS. Aspectos da exposição ambiental aos agroquímicos no desenvolvimento animal. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*. Brasília, 21(3): 469-497, 2004.
8. CHELONIS J, FLAKE R, BALDWIN R, BLAKE B, PAULE M. Developmental aspects of timing behavior in children. *Neurotoxicology and Teratology*. 26: (3)461-476, 2004.
9. COSTA L, ASCHNER M, VITALONE A, SYVERSEN T, SOLDIN O. Developmental neuropathology of environmental agents. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 44:87-110, 2004.
10. COTRAN RS, KUMAR V, ROBBINS SL. *Patologia estrutural e funcional*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996, 326-328.
11. FIGUEIRÓ-FILHO EA, UEHARA SNO, SENEFFONTE FRA, LOPES AHA, DUARTE G, BEITUNE PE. Leishmaniose visceral e gestação: relato de caso. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 27(2): 92-97, 2005.
12. GONTIJO CMF, MELO MN. Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. *Rev bras epidemiol*. 7(3): 338-349, 2004.
13. GUERRA MO, MOTTAS S, PETERS VM, REIS JEP. Administração do polvilho de lobería (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) a ratas lactando: desenvolvimento físico das crias. *Rev Lecta*. 20(1): 53-60, 2002.
14. GUERRA RF. Uma análise evolucionária da parturição e desenvolvimento infantil em mamíferos. *Revista de Ciências Humanas*. 34:395-440, 2003.
15. HU M, CROMBARG H, ROBINSON T, BECKER J. Biological basis of sex differences in the propensity to self-administer cocaine. *Neuropsychopharmacology*. London, 29(1): 81-85, 2004.
16. HUGHES I. Minireview: sex differentiation. *Endocrinology*. Bethesda, 142(8): 3281-3287, 2001.
17. KIMMEL C. Current approaches to risk assessment for developmental neurotoxicology. In SLIKKER W, CHANG L. *Handbook of Developmental Neurotoxicology*. San Diego: Academic Press. 1998, 675 - 685.
18. LINDEMANN T, PRANGE A, DANNECKER W, NEIDHART B. Stability studie of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in water, urine, fish and soil extracts using HPLC/ICP-MS, Freseniu's J. *Anal Chem*. 368 (2/3): 214-220, 2000.
19. McCARTNEY M, SCINTO P, WANG S, ALTAN S. Developmental effects of phenytoin may differ depending on sex of offspring. *Neurotoxicology and Teratology*. Oxford, 21(2): 119-128, 1999.
20. MELLO CF, KRAEMER CK, FILIPPIN A, MORSCH VM, RODRIGUES ALS, MARTINS AF *et al.*, Effect of lead acetato on neurobehavioral development of rats. *Braz J Med Biol Res*. 31(7): 943-950, 1998.
21. MIRANDA ES, MIEKEKEY N, DE-CARVALHO RR, PAUGARTTEN FJ. Developmental toxicity of meglumine antimoniate and transplacental transfer of antimony in the rat. *Reprod Toxicol*. 21: 292-300, 2006.
22. NAVA A, ROMAN SS. Efeito do Antimoniato de Meglumina sobre a performance reprodutiva de camundongos prenhes. *Vivências*. 1(3): 201-12, 2006.
23. PAUMGARTTEN FJR, CHAHOUD I Embryotoxicity of meglumine antimoniate in the rat. *Reprod Toxicol*. 15(3): 327-331, 2001.
24. RATH S, TRIVELIN LA, IMBRUNITO TR, TOMAZELA DM, JESÚS MN, MARZAL PC. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. *Quím Nova*. São Paulo, 26(4): 550-555, 2003.
25. RODRIGUES AM, HUEB M, SANTOS TARR, FONTES CJF. Fatores associados ao insucesso do tratamento da leishmaniose cutânea com antimoniato de meglumina. *Rev Soc Bras Med Trop*. 39(2): 139-145, 2006.
26. SALGADO HRN, MICHELIN DC, CHORILLI M. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 28(1): 11-23, 2007.
27. SANTOS MR, KRIGNIL CJ, NAVA A, REIK CMS, SILVA FEB, ROMAN SS. Avaliação do efeito cumulativo do Antimoniato de Meglumina sobre a prole de camundongos Swiss: Ensaio biológico. *Rev Assoc Med Bras*. 54(1): 1-4, 2008.
28. SILVA LMR, CUNHA PR. A urbanização da leishmaniose tegumentar americana no município de Campinas – São Paulo (SP) e região: magnitude do problema e desafios. *An Bras Dermatol*. 82(6): 515-9, 2007.
29. TROPP J, MARKUS E. Sex differences in the dynamics of cue utilization and exploratory behavior. *Behavioral Brain Research*. New York, 119(3):143-154, 2001.
30. UTILLI R, RAMBALDI A, TRIPODI MF, ANDREANA A. Visceral leishmaniasis during pregnancy treated with meglumine antimoniate. *J Infect Dis*. 23(3): 182-183, 1995.
31. WALKER Q, CABASSA J, KAPLAN K, LI S, HAROON J, SPOHR H, KUHN C. Sex Differences in Cocaine-Stimulated Motor Behavior Disparate Effects of Gonadectomy. *Neuropsychopharmacology*. London, 25(1): 118-130, 2001.

CORRESPONDÊNCIA

Silvane Souza Roman
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Departamento de Ciências da saúde
Av. Sete de Setembro 1621, Centro.
99.700-000 Erechim - Rio Grande do Sul - Brasil

E-MAIL
roman@uri.com.br