

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LAIS HARTMANN JARDIM

**Avaliação do Comportamento Materno de Ratas Wistar Tratadas com Diferentes  
Concentrações do Óleo Essencial de *Origanum majorana***

Porto Alegre

DEZEMBRO/2014

LAIS HARTMANN JARDIM

**Avaliação do Comportamento Materno de Ratas Wistar Tratadas com Diferentes  
Concentrações do Óleo Essencial de *Origanum majorana***

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado ao Instituto de Ciências Básicas  
da Saúde da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, como requisito parcial para  
obtenção do título de Bacharel(a) em  
Biomedicina.

Orientador: Dr. João Roberto Braga de Mello

Co-orientadora: MSc. Andrea dos Santos  
Dantas

Porto Alegre

DEZEMBRO/2014

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primariamente a Deus que sempre esteve ao meu lado.

Todo apoio, incentivo e auxilio da minha família que sempre me encorajou a estudar e crescer profissionalmente apoiando minhas decisões. Ao Bruno, pelo amor, pelo companheirismo e pela paciência.

Pela companhia das minhas lindas amigas Juliana, Laura, Nathália, Thayssa e Vanessa durante toda a faculdade, que sempre deram muito apoio nos momentos de dificuldade.

A todos os profissionais do Laboratório de Produtos Naturais e Fitoquímica/ Toxicologia e Farmacologia Reprodutiva pelo acolhimento e apoio durante meu estágio em pesquisa e por todo conhecimento que obtive.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela formação que tive, na qual obtive muitos aprendizados pessoais e profissionais.

Ao programa "Ciência sem Fronteiras Espanha" pela oportunidade de estudar em uma Universidade no exterior (Universitat de Barcelona) a qual me incentivou a aprimorar meu conhecimento científico e buscar que no Brasil tenhamos a mesma qualidade e desenvolvimento de uma Universidade como a que estudei.

A todos que de forma direta ou indireta auxiliaram neste trabalho.

*"Watch your thoughts; they become words. Watch your words; they become actions. Watch your actions, they become habits. Watch your habits, they become character. Watch your character; it becomes your destiny".*

Frank Outlaw

## SUMÁRIO

RESUMO .....	05
ABSTRACT .....	06
1 INTRODUÇÃO.....	07
1.1 Aspectos regulatórios sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais .....	07
1.2 Caracterização da espécie <i>Origanum majorana</i> .....	09
1.3 Estudo de toxicidade reprodutiva .....	12
1.4 Comportamento materno e suas vias .....	13
1.5 Objetivo geral .....	17
2 TRABALHO EXPERIMENTAL.....	18
3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	24
BIBLIOGRAFIA .....	27

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos de diferentes doses do Óleo Essencial de *Origanum majorana* (OEOM), no comportamento materno. OEOM foi extraído das folhas de *Origanum majorana* pelo método de destilação por arraste a vapor, usando o aparelho Clevenger modificado. O OEOM nas doses de 33mg/kg, 100mg/kg e 300mg/kg (dose que apresentou atividade antimicrobiana *in vitro*, 3g%) e o controle negativo (tween 3%) foram administrados diariamente, por gavagem (sonda orogástrica) de acordo com a massa corporal (10 ml/kg) em ratos Wistar uma vez por dia, pela manhã (ciclo claro), nos machos por 70 dias antes do acasalamento e durante o acasalamento (21 dias); e nas fêmeas por 14 dias antes do acasalamento, durante o período de acasalamento (até a fêmea ser coberta), durante a gestação (21 dias) e período de lactação (até o dia 21 quando é realizada a separação entre a mãe e os filhotes). Foi realizado o teste de comportamento materno e analisados os seguintes componentes: comportamento de lambar os filhotes, comportamento de retirada/busca dos filhotes, qualidade da construção do ninho e comportamento de aleitamento dos filhotes. Os resultados obtidos sugerem que diferentes doses do OEOM causam alterações em pelo menos dois dos componentes do comportamento materno estudados, comportamento de retirada dos filhotes e a qualidade de construção no ninho. Indicando que o OEOM causa alterações em um componente da toxicidade reprodutiva materna, o comportamento materno.

Palavras-chave: Comportamento, Comportamento materno, Óleo Essencial de *Origanum majorana*.

## ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effects of different doses of *Origanum majorana* essential oil (OMEEO), on maternal behavior. OMEEO was extracted from the leaves of *Origanum majorana* by steam distillation using a modified Clevenger device. The OMEEO on the doses of 33mg/kg, 100mg/kg, 300mg/kg (dose that shows antimicrobial activity in vitro, 3g%) and the negative control (tween 3%) were given to the wistar rats daily, in the morning (light conditions) orally (gavage) according to the weight body (10ml/kg), it was administered once a day for 70 days before and during mating (21 days) on males; and on females for 14 days before and during mating (up to the female to be covered), during pregnant period ( 21 days) and lactation period until the day 21 when the mother was separated from de litters. Maternal behavior test was performed and pup-licking, pup retrieval, nest-building, and nursing behaviors were analyzed. Results suggest that different doses of OMEEO cause changes in at least two of the components of maternal behavior, nest building quality and pup retrieval behavior. Indicating that the OMEEO causes change on a component of maternal reproductive toxicity, the maternal behavior.

Keywords: Behavior, Maternal behavior, *Origanum majorana* essential oil

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aspectos regulatórios sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais

Atualmente, a preocupação com a saúde é muito grande, assim, pensando na saúde pública em geral cientistas buscam novas substâncias químicas para tratamento de desordens orgânicas nas mais diversas áreas. As plantas tem se mostrado uma excelente fonte de busca para novas drogas, incluindo substâncias antioxidantes, antipsicóticas, quimioterápicas, antimicrobianas, entre outras. Conseqüentemente a busca por novas substâncias naturais que sejam biologicamente ativas é muito grande e cientistas procuram por plantas com potencial terapêutico em diferentes regiões do planeta (HUSSAIN *et al.*, 2011).

Todavia, apesar de ser uma área de grande interesse e promissora (observa-se um crescente interesse em utilizar os óleos essenciais ou outros extratos como terapias), poucas são as plantas medicinais estudadas segundo os atuais protocolos emitidos por órgãos científicos internacionais (CAPASSO *et al.*, 2000; VEIGA JUNIOR, 2008). Para validar o uso de uma planta medicinal é necessário uma investigação sistemática envolvendo vários aspectos que somados resultarão no medicamento fitoterápico. Para o surgimento de um novo medicamento fitoterápico é feita a investigação da planta que segue as etapas: botânica, com identificação da espécie-alvo; farmacêutica, com padronização do material a ser analisado; de ensaios biológicos pré-clínicos, com avaliação farmacológica e toxicológica; e clínica, realizadas apenas após indicações seguras de que os benefícios do uso medicinal suplantam os riscos de uma possível ação tóxica (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

Por diferentes razões, a atenção dirigida pelas autoridades e órgãos gestores em saúde, em diferentes setores, para o uso de plantas medicinais aumentou consideravelmente nos últimos anos. Incentivo em investimentos públicos em plantas medicinais tem sido feito pela OMS desde 1978, observando-se crescente aceitação da fitoterapia por profissionais de saúde da atenção básica assim como a observação do aumento de seu uso pela população (HOMAR, 2005). Nos países em desenvolvimento, isto resultou principalmente na decisão de dar um tratamento mais sério a medicina



tradicional e de explorar a possibilidade de utilizá-la em cuidados primários de saúde (GUIMARÃES 2006; CARVALHO *et al.*, 2008).

Infelizmente, a maior parte dos fitoterápicos que são utilizados como automedicação ou por prescrição médica não tem o seu perfil tóxico bem conhecido (CAPASSO *et al.*, 2000; VEIGA JUNIOR, 2008). Mesmo que de baixa toxicidade, a utilização inadequada de um produto pode induzir problemas graves, quando existem outros fatores de risco associados, tais como contraindicações ou uso concomitante de outros medicamentos (COELHO, 1998; CHUNG *et al.*, 2005; AMORIM *et al.*, 2007). As evidências científicas de ocorrências de intoxicações e de efeitos colaterais relacionados com o uso de plantas medicinais consistem em informações que dificilmente chegam ao alcance dos usuários atendidos nos serviços de saúde pública, que na maioria das vezes são indivíduos de baixa escolaridade e nível cultural, sendo esta uma das razões pelas quais a crença na "naturalidade inócua" dos fitoterápicos e plantas medicinais não é facilmente contradita, já que as pessoas não tem acesso as informações (SIMÕES *et al.*, 1998; SILVA, 2003; SILVA *et al.*, 2006).

Cerca de 65 a 80% da população mundial, segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), especialmente em países em desenvolvimento, ainda confiam nos produtos a base de plantas medicinais para o tratamento de suas doenças, ou utiliza a medicina tradicional na atenção primária à saúde, muitas vezes como fonte complementar a alguma medicação fornecida pelo profissional de medicina (RAHMAN; SINGHAL, 2002). Esses produtos são utilizados para várias finalidades, sob diversas combinações (com medicamentos alopáticos, homeopáticos, entre outros) baseados em evidências históricas ou pessoais, onde geralmente não são atribuídos nenhum evento adverso (CALIXTO, 2000; FUNARI; FERRO, 2005).

Para que produtos industrializados (fitoterápicos e fármacos em geral) sejam produzidos ou disponibilizados no mercado para consumo, a legislação brasileira e internacional exige uma avaliação rigorosa de suas características que inclui testes para determinar suas atividades toxicológicas e ainda seu potencial mutagênico. Existem diferenças entre as exigências nos diferentes países ou blocos econômicos, mas em geral, os principais protocolos a serem observados são os emitidos pela Europa através da *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD), pelos Estados Unidos da América através do *Food and Drug Administration* (FDA), ou ainda, Canadá, Ásia e Japão (SILVA, 2003). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão regulador para registro de medicamentos fitoterápicos para uso

humano e prevê a realização de estudos de toxicidade pré-clínica. Os ensaios de toxicidade reprodutiva estão previstos quando o medicamento for indicado para administração de longa duração ou para gestantes, segundo o guia emitido por esse órgão (que tem por objetivo indicar métodos padronizados para os estudos de toxicologia pré-clínica para fitoterápicos incluindo toxicidade aguda, toxicidade de doses repetidas e ensaios de genotoxicidade e toxicidade tópica) (ANVISA, 2004).

Adaptando as normas da ANVISA com as normas internacionais, a realização de testes de avaliação da toxicidade reprodutiva é guiada pela *Environmental Protection Agency* (EPA) e recomendada por OECD e FDA, que abrangem três segmentos: Segmento I “Toxicidade crônica e reprodutiva” pela avaliação de efeitos sobre a fertilidade de machos e fêmeas antes e durante o acasalamento; Segmento II “Toxicidade pré-natal – estudo de teratogenicidade”, com exposição da progênie durante a fase de organogênese; e Segmento III “Toxicidade peri e pós-natal” onde são avaliados os efeitos sobre o desenvolvimento pré e pós-natal de progênies expostas durante as fases de desenvolvimento fetal e lactação (OECD, 1998; LEMONICA *et al.*, 2001).

O caso da Talidomida, medicamento utilizado por mulheres gestante na década de 60 para diminuir os enjoos da gravidez, é um exemplo de impacto sobre o sistema reprodutivo, já que causa efeitos teratogênicos em fetos como má-formação e ausência de membros inferiores e superiores. Esse acontecimento levou a um aumento do conhecimento da toxicidade de compostos químicos e medicamentos sobre o sistema reprodutivo e também aumentou o rigor quanto aos estudos de segurança e eficácia de novos medicamentos, incluindo os estudos de toxicidade reprodutiva (MELLO, 2007).

## **1.2 Caracterização da espécie *Origanum majorana* e dos óleos essenciais**

O gênero *Origanum* L., Lamiaceae, compreende diversas espécies de ervas anuais, perenes e arbustivas, a maioria das quais são nativas ou restritas do sul da Europa e área Mediterrânea (SARI *et al.*, 2006). Este gênero inclui algumas importantes ervas culinárias e plantas medicinais, incluindo *Origanum vulgare* L e *Origanum majorana* L, respectivamente conhecidas como "orégano" e "manjerona". A manjerona é umas das ervas culinárias mais populares do mundo, e foi cultivada no Egito por mais de 3000 anos, o Egito produz 90% do suplemento mundial (RAMADAN *et al.*, 2012).

*Origanum majorana* L. (ou *Majorana hortensis*, segundo a classificação de Moench), conhecida como manjerona-doce, possui um odor forte, aromático, penetrante, quente, às vezes picante, mas muito agradável. A planta verde tem um perfume semelhante ao de uma flor (VON HERTWIG, 1986; RIBEIRO 2002). *Origanum majorana* L é uma planta perene, com uma porção subterrânea formada por raízes fibrosas. O caule é bem ramificado e de coloração avermelhada, alcançando entre 30 a 60cm. Apresenta ramos lenhosos, frágeis e quadrangulares. Suas folhas são ovais, inteiras, pecioladas de coloração verde acinzentada. As flores são pequenas em espigas oblongas, com a cor variando de branca a rosada (KEN, 1951). O produto mais importante em sua composição é o óleo essencial, que representa entre 0,30 e 0,40% da planta fresca e entre 0,7 e 3,5% das folhas secas. O óleo extraído é muito aromático e de cor amarelo-esverdeada (QUER, 1988).

A *Origanum majorana* é utilizada na área culinária sendo usada como uma especiaria e agente aromatizante, e na medicina popular, utilizada em diferentes tratamentos como infecção no peito, tosse, asma, resfriado, dor de cabeça, garganta inflamada, dor reumática, distúrbios do sistema nervoso, doenças do estômago, doenças cardiovasculares, e de cuidados da pele (VAGI *et al.*, 2005; AL DHAHERI *et al.*, 2013). Muitos dos usos tradicionais da *Origanum majorana* foram demonstrados *in vivo* e *in vitro* (AL DHAHERI *et al.*, 2013). Estudos recentes mostram que *O. majorana* possui diversas atividades biológicas, incluindo atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e hepatoprotetora (EL-ASHMAWY *et al.*, 2005; VAGI *et al.*, 2005; LEEJA; THOPPIL, 2007).

A atividade *in vitro* do OEOM foi avaliada frente a leveduras provenientes da cavidade oral e vias urinárias de fêmeas caninas, entre elas *Candida sp*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. famata*, *Cryptococcus albidus*, *T. asahii*. Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fúngica mínima (CFM) para OEOM variaram de 3,7 a 30 $\mu$ L/mL (SANTIN, 2011).

Entretanto, existem poucos estudos sobre os efeitos tóxicos da *Origanum majorana*, por isso investigar os potenciais riscos toxicológicos de sua utilização no que se refere à toxicidade reprodutiva contribuirá para a elucidação prévia de questões relacionadas à segurança do seu uso como agente terapêutico que poderiam restringir ou impossibilitar seu uso como insumo farmacêutico (DANTAS, 2012).

A destilação por arraste a vapor de água é o principal método industrial de obtenção do óleo essencial, muito utilizado pela indústria como flavorizante. Para

utilização na produção de bebidas alcoólicas (licor com sabor de ervas), os componentes voláteis são separados por percolação e posterior destilação com uma mistura de água-álcool. Além da extração com arraste a vapor ou com solventes orgânicos, outra técnica de extração dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor é a extração com fluido supercrítico. A extração supercrítica permite obter o óleo essencial livre dos resíduos do tecido vegetal, tais como ácidos graxos, pigmentos, cumarinas, flavonas e esteróis, entre outros. Em estudos comparativos entre extratos de plantas, o método de extração parece exercer grande influência na composição do produto extraído (RIBEIRO, 2002).

Após serem extraídos, os óleos essenciais devem ser analisados para identificar e quantificar seus componentes. Para tal, são empregadas técnicas cromatográficas, como a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). Na CG, a amostra injetada no cromatógrafo volatiliza, permitindo a separação e a identificação dos compostos individuais através do tempo de retenção relativo da amostra quando comparados com padrões. Na CG/EM, além da separação dos componentes, obtém-se espectros de massas de cada pico, que também podem ser comparados com espectros de massas de padrões ou com espectros constantes na literatura ou na biblioteca do equipamento (SIMÕES, 2000).

A composição mais comum da *Origanum majorana* é a presença de ácidos (carnósico, oleanólico e ursólico), hidrato de cis-sabinene, flavonóides (diosmetin, luteolina e apigenina), hidrocarbonetos (P-cimeno e  $\gamma$ -terpineno), glicosídeos fenólicos (arbutina, metil vitexina, orientina e thimonina), terpenóides fenólicos (timol e carvacrol), taninos, sitosterol e triacontan (LEUNG, 1980; ASSAF *et al.*, 1987; NOVAK *et al.*, 2000). Mostrou-se que o teor de óleo essencial e extratos de espécies de *Origanum* podem mudar dependendo das diferenças de modo de cultivo, origem (diferenças geográficas), estado vegetativo e estação de crescimento das plantas e diferenças climáticas como a temperatura (AL DHAHERI *et al.*, 2013).

Conforme a ISO 9235:1997 um óleo essencial é definido como o produto obtido a partir de matéria prima natural de origem vegetal, seja por destilação por vapor arraste a vapor (ou por destilação fracionada) ou por processamentos mecânicos, como ocorre na extração de pericarpos de frutos citrinos, com posterior separação da fase aquosa por processos físicos (centrifugação) (ISO 9235, 1997).

As características mais importantes de um óleo essencial são sua fragrância e suas atividades antimicrobianas e antioxidantes, portanto, é largamente utilizado em

indústrias de perfume, indústrias farmacêuticas, indústrias de cosméticos, dentre outras (SILVEIRA *et al.*, 2012).

A atividade antioxidante dos óleos essenciais está relacionada, sobretudo, com a presença de compostos fenólicos, todavia compostos como os flavonóides e terpenoídes (como timol, carvacrol e eugenol) também apresentam atividade antioxidante. Quantitativamente, os compostos fenólicos são os antioxidantes mais representativos do reino vegetal (MARTÍNEZ-VALVERDE *et al.*, 2000).

Os compostos fenólicos apresentam uma grande quantidade de propriedades fisiológicas: antialérgica, antiarteriogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora (BALASUNDRAM *et al.*, 2006). Bloqueiam a ação de enzimas específicas que causam inflamação (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004); modificam as rotas metabólicas das prostaglandinas (VALKO *et al.*, 2007); protegem a aglomeração plaquetária e inibem a ativação de carcinógenos (LIU, 2005). E estas são apenas algumas das ações dos óleos essenciais.

### **1.3 Estudo de toxicidade reprodutiva**

Como mencionado, agentes químicos administrados podem afetar o ciclo reprodutivo de animais e isto pode acontecer em quaisquer das suas diferentes fases, impedindo ou inibindo temporariamente a reprodução, causando defeitos de desenvolvimento na prole exposta e assim por diante. Desta forma, os estudos de toxicidade reprodutiva têm que ser igualmente abrangentes para que se possam detectar diferentes tipos de agravos nas diferentes fases do ciclo reprodutivo.

Os testes de avaliação da toxicidade reprodutiva compreendem a exposição de animais sexualmente maduros perante administração da substância em questão antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal e após o nascimento e, continuamente até sua maturação sexual (LEMONICA *et al.*, 2001).

Este trabalho é parte integrante do projeto de pesquisa da MSc. Andrea dos Santos Dantas, intitulado: Estudo de Toxicidade Reprodutiva e Genotoxicidade do Óleo Essencial de *Origanum majorana* (DANTAS, 2012). Nesse trabalho é realizada a exposição dos machos 70 dias antes do acasalamento e mais 21 dias durante o acasalamento (totalizando 91 dias) e das fêmeas por 14 dias antes do acasalamento, durante o acasalamento, durante a gestação (aproximadamente 21 dias) e lactação até o 21º dia após o nascimento (no 21º dia é realizada a separação mãe-filhotes), procurando

identificar se o OEOM causa efeitos adversos no que se refere à toxicidade reprodutiva e genotoxicidade que impossibilitem ou restrinjam a utilização deste composto como fármaco (DANTAS, 2012).

O segmento III, foco deste trabalho de conclusão de curso, refere-se a toxicidade peri e pós-natal onde são avaliados os efeitos sobre o desenvolvimento pré e pós-natal de progênes expostas durante as fases de desenvolvimento fetal e lactação (DANTAS, 2012).

O período neonatal (fase final do período perinatal) tem seu início ao nascimento da prole, sendo finalizado com o término da lactação. Ocorre a maturação funcional e ganho de peso corporal, nesse período. Por outro lado, o ambiente inicial do neonato é determinado pela mãe que é responsável pela sobrevivência dos filhotes. A mãe é a primeira fonte de conforto térmico, alimentação e limpeza, determinando primariamente o desenvolvimento da arquitetura do cérebro após o nascimento.

Intervenções na relação mãe-filhotes podem afetar comportamentos emocionais e respostas ao estresse na vida adulta (HUOT, 2004). Assim, a interação mãe-filhotes é crucial para o crescimento somático e o desenvolvimento comportamental (CASTRO, 2006).

#### **1.4 Comportamento materno e suas vias**

Em humanos e roedores, ocasiões estressoras durante a gestação tem sido relacionadas a alterações comportamentais na idade adulta da prole (KOFMAN, 2002; TALGE *et al.*, 2007). As repercussões relacionadas a essa intervenção são atribuídas, na maioria dos estudos, principalmente, aos seus efeitos que causa por si, os quais aumentam os níveis de glicocorticoides na circulação das progenitoras e através da placenta chegam ao feto. Todavia, estudos têm mostrado que efeitos de estresse pré-natal sobre os filhotes podem ser devido a mudanças ocorridas no ambiente pós-natal, relacionadas à alteração do comportamento materno, mais especificamente (DEL CERRO *et al.*, 2010).

O comportamento materno pode ser definido como o comportamento da fêmea lactante em relação a sua prole imatura. Este comportamento inclui a posição de aleitamento, que promove nutrição e calor aos filhotes, o comportamento busca e agrupamento dos filhotes ao ninho e a construção do ninho (NUMAN, 1994).

A mãe desempenha um importante papel no desenvolvimento das respostas ao estresse. Os filhotes que recebem maior quantidade de cuidado materno apresentam resposta reduzida de corticosterona quando adultos, se submetidos a estresse (ANISMAN *et al.*, 1998). Também apresentam maior atividade no campo aberto e menor latência para iniciar a comer em um novo ambiente (CALDJI *et al.*, 1998).

O estímulo tátil é extremamente importante para o desenvolvimento normal da maioria dos mamíferos. Nos ratos, o principal estímulo tátil nos filhotes é o comportamento de lambar o corpo e a região anogenital destes. Este comportamento, descrito como tão importante quanto a lactação, tem papel nos sistemas neurais e altera a plasticidade do sistema nervoso central (VAN OERS *et al.*, 1998).

A mãe está envolvida em várias respostas fisiológicas aos filhotes, dentre as quais: regular a frequência cardíaca, o ritmo cardíaco e a produção do GH (somatotrofina, hormônio do crescimento) são as mais mencionadas (LEVINE, 2001; KUHN *et al.*, 1978). A diminuição dos níveis da ornitina descarboxilase em células de órgãos como o cérebro e o fígado em roedores que estão em desenvolvimento está diretamente associada a diminuição do comportamento maternal ativo (HUHN *et al.*, 1978).

Ao nascerem, os mamíferos não estão com o sistema nervoso plenamente desenvolvido. Nos ratos, o sistema nervoso está suscetível a alterações ambientais logo após o nascimento. O desenvolvimento de respostas adaptativas ao estresse pode ser modificado por eventos que ocorrem durante este período (MEANEY *et al.*, 1993).

O período neonatal corresponde ao período onde as ligações sociais do animal são primariamente formadas (SCOTT, 1962). Durante esta fase o organismo está altamente sensível aos efeitos de estímulos ambientais, como, a manipulação por parte do experimentador, ou alterações no comportamento materno. As estimulações neonatais que induzem as alterações comportamentais e neuroendócrinas parecem persistir ao longo da vida do animal (FRANCIS, 1996).

A separação da mãe por longos períodos pode alterar as vias de resposta ao estresse, pois a mãe é a primeira ligação entre o filhote e o meio ambiente (FRANCIS; MEANEY, 1999) e a alteração desta relação pode alterar a diferenciação do sistema nervoso dos filhotes. O desenvolvimento do eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenal) é afetado por eventos que aconteceram no início da vida, durante esta fase, nos roedores, os receptores de glicocorticoides do hipocampo demonstram plasticidade (FRANCIS *et al.*, 1996).

Nos ratos, o comportamento materno ocorre com uma frequência maior nos primeiros dez dias após o parto (GROTA, 1969), já que os filhotes de ratos nascem parcialmente imóveis, desprovidos de pelos, surdos e cegos, incapazes de se locomover e de regular sua temperatura; e sua dependência em relação à mãe diminui a partir daí, conforme aumenta a autonomia dos filhotes. Até o 12º dia de vida, aproximadamente, é a mãe que toma a iniciativa de se aproximar dos filhotes. Após este período, os filhotes que se aproximam da mãe para quando necessitam de cuidados, já que estão aptos a se locomover e a deixar o ninho (LEON, 1971). Depois de duas semanas do nascimento há um declínio gradual dos cuidados da progenitora em relação aos filhotes, até que a rejeição dos filhotes pela mãe no desmame ocorra (REISBICK, 1975).

A ritmicidade do comportamento materno da fêmea lactante é mais intensa durante o dia (GROTA, 1969). Outros fatores também afetam o comportamento materno, por exemplo, a temperatura dos filhotes, o número e o tamanho destes e o peso da mãe. As mães passam mais tempo junto dos filhotes durante o ciclo claro, pois o pico de temperatura materno ocorre durante a noite e a temperatura do ninho restringe o tempo em que a mãe permanece no ninho com a prole (LEON, 1984).

Após o parto, a progenitora lactante se engaja em manter uma série de cuidados com os filhotes (*Pup Nursing*). Na maior parte do tempo ela fica sobre eles, para aquecê-los (GROTA, 1969). Ela pode se manter por cima dos filhotes com uma postura arqueada, esta postura faz com que as mamas fiquem mais expostas e facilita a ejeção do leite quando os filhotes realizam a sucção do leite (STERN, 1990). Ao parirem as lactantes passam até 85% do tempo total juntos aos filhotes (GROTA, 1969), a quantidade de bebida e ração consumida pela progenitora diminui consideravelmente.

Como mencionado, o comportamento de lambar os filhotes (*Pup Licking*) também é importante; este comportamento ocorre por todo o corpo e pela região anogenital (períneo) e seu propósito é estimular a excreção dos filhotes e, além disto, serve como reposição de água e eletrólitos para a mãe lactante, já que ela ingere a urina dos filhotes (GUBERNICK, 1985). O comportamento de lambar ocorre em alta frequência nos primeiros dias após o parto e a frequência de lambar a região anogenital é maior nos filhotes machos que nas fêmeas (MOORE, 1979). O comportamento de lambar os filhotes é um importante estímulo táctil que pode influenciar no desenvolvimento social dos filhotes machos e fêmeas quando adultos, sendo o comportamento sexual muito importante neste quesito (BIRKE 1987; MOORE, 1992). Estímulos olfatórios e a quantidade de urina estão envolvidos na frequência de duração



deste comportamento (MOORE; POWER, 1992). Este comportamento influencia o comportamento materno futuro, pois as filhotes fêmeas que receberam uma quantidade de lambidas maior ficarão mais tempo com seus filhotes quando forem mães (FRANCIS, 2000).

As vias que influenciam o comportamento materno são muito estudadas, todavia ainda não estão plenamente claros todos os constituintes presentes. A regulação do comportamento materno em ratos ocorre em duas fases (NUMAN, 1994). O início natural do comportamento materno ocorre no dia do parto, e é controlado por vários hormônios relacionados com a gestação (estrogênio, progesterona, prolactina e ocitocina). A fase de manutenção do comportamento materno ocorre durante o período pós-parto, e é controlado principalmente por fatores não hormonais (ou seja, os estímulos multissensoriais fornecidos por filhotes) (SILVA *et al.*, 2001). Extensas pesquisas delinearão os circuitos neurais básicos que medeiam a expressão do comportamento materno, visão atual é que os sistemas de dopamina (DA) mesolímbica e mesocorticais fazem parte de um sistema motivacional não específico ou geral, que serve para aumentar a capacidade de resposta de um organismo a uma vasta variedade de estímulos biologicamente significativos, incluindo os filhotes (CHEN *et al.*, 2014), e que a DA está envolvida em ambas as fases de regulação do comportamento (BRIDGES, 1996).

A serotonina é um neurotransmissor importante ligado em muitos processos psicológicos relevantes para o comportamento materno (VEIGA *et al.*, 2007); estudos mostram que uma alteração nesta via pode romper o comportamento materno (CHEN *et al.*, 2014).

A gestação e período pós-parto estão associados com as flutuações hormonais, mudanças na função e regulação neuroendócrina. Por exemplo, a sensibilidade e a regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) é alterada durante a gestação e o período pós-parto em humanos e roedores (BRUNTON; RUSSELL, 2008). Esta sensibilidade alterada, possivelmente é iniciada por meio de hormônios esteroides e peptídeos relacionados com a gravidez, tais como a ocitocina, que se acredita desempenhar um papel redutor do estresse durante este período (LIGHTMAN *et al.*, 2001; TORNER *et al.*, 2002). Apesar dessa diminuição da resposta ao estresse durante a gravidez e o pós-parto, o estresse durante estes tempos pode ser duradouro no desenvolvimento da prole em humanos e em roedores (MACCARI; MORLEY-FLETCHER, 2007; BRUMMELTE; GALEA, 2010b). Existem muitos

outros estudos sendo realizados procurando identificar outros componentes biológicos que podem alterar o comportamento, mas ainda precisam ser melhor elucidados.

Alterações causadas por administração de substâncias podem causar depressão materna durante a gestação e/ou o período pós-parto que afeta não só o bem-estar da mãe, mas também o desenvolvimento da prole (MURRAY; COOPER, 1997; MURRAY *et al.*, 2007). Sabe-se que o estresse crônico pode afetar o comportamento, emoção, cognição e morfologia do cérebro (GALEA *et al.*, 1997; SOUSA *et al.*, 2000).

### **1.5 Objetivo geral**

Considerando a importância do comportamento materno no desenvolvimento da progênie, e que o mesmo pode ser alterado pela administração do óleo de *Origanum majorana* à fêmea progenitora antes e durante a gestação e a lactação, neste trabalho realizou-se a padronização da avaliação do comportamento materno e a aplicação do método com as mães tratadas com o óleo essencial em diferentes concentrações.

Dessa forma através da avaliação do comportamento das fêmeas tratadas em relação à progênie pode-se inferir se o OEOM causa alterações fisiológicas que possam ser mensuradas através do comportamento materno e que possam ser relacionadas à toxicidade causada pelo tratamento com o OEOM.

## 2 TRABALHO EXPERIMENTAL

### Physiology & Behavior

## Evaluation of Maternal Behavior of Wistar rats treated with different concentrations of *Origanum majorana* essential oil

Lais Jardim<sup>a\*</sup>, Andrea Dantas<sup>a</sup>, João Mello<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Produtos Naturais/Fitoquímica - Farmacologia e Toxicologia Veterinária

Departamento de Farmacologia - ICBS (Instituto de Ciências Básicas da Saúde) - UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

---

#### Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of different doses of *Origanum majorana* essential oil (OMEO, on maternal behavior. OMEO was extracted from the leaves of *Origanum majorana* by steam distillation using a modified Clevenger device. The OMEO (33mg/kg, 100mg/kg, 300mg/kg - dose that shows antimicrobial activity in vitro, 3g%) and the negative control (tween 3%) were given to the wistar rats daily, in the morning (light conditions) orally (gavage) according to the weight body (10ml/kg/body weight), it was administered once a day for 70 days before and during mating (21 days) on males and on females for 14 days before and during mating (up to the female to be covered), during pregnant period (21 days) and lactation period until the day 21 when the mother was separated from de litters. Maternal behavior test was performed and pup-licking, pup retrieval, nest-building, and nursing behaviors were analyzed. Results suggest that different doses of OMEO cause changes in at least two of the components of maternal behavior, nest building quality and pup retrieval behavior. Indicating that the OMEO causes change on a component of maternal toxicity, the maternal behavior.

Keywords: Behavior, Maternal behavior, *Origanum majorana* essential oil

---

#### 1. Introduction

As know, plants have been shown to be an excellent source of new drugs [1], so nowadays scientists are trying to identify new phytochemicals. *Origanum majorana* belongs to the family Lamiaceae. It is commonly known as marjoram. Known species of the genus *Origanum*, a large number, are utilized worldwide as spices and flavoring agents and has a history of both culinary and medicinal use that is long. *Origanum majorana* is used as a home remedy for chest infection, cough, sore throat, rheumatic pain, nervous disorders, stomach disorders, cardiovascular diseases, and skin care [1]. There are a few reports on the antimicrobial and antioxidant activities of the *Origanum* essential oils are available to date [2-4]. *Origanum majorana* essential oil (OMEO) could protect liver and kidney damage, and lead acetate injury [5-7]. Although there are some studies about the activities of OMEO, we still have to look for the adverse effects that it could cause.

Is during their childbearing years, a time when steroid and peptide hormones can fluctuate dramatically, the time of the highest risk for women to develop depression [8, 9]. The postpartum period is considered, in fact, the time of greatest risk for women to develop major depression [10], and hormonal fluctuations during pregnancy and postpartum are believed to play an important role in the establishment of depressive symptoms.

Maternal depression is known to change the relationship between the mother and their infant and the attachment [11, 12], which has a crucial impact on child development. In fact, children of mothers with post partum depression have an increased risk to develop depression, emotional and antisocial disorders and present with impaired cognitive, motor and social development [13-16]. Therefore the maternal state during gestation and postpartum can remarkably influence the emotional and cognitive outcome of the offspring and may also contribute to a greater susceptibility to neuropsychiatric and childhood disorders [13, 14].

During the neonatal period occurs the functional maturation and gain of body weight of the litter, and the social development such as the sexual behavior. The maternal behavior is extremely important for the litters development, functional changes such as modifications in behavioral responses or neural function. The number of studies about the activity of OMEO is large, however studies in toxicological studies are inexistent [17].

Animal models are widely used to investigate toxicity effects of drugs on maternal behavior. Maternal behavior in the rat consists of several well characterized behaviors which all promote the survival of the childish. The components of the maternal behavior includes pup-licking, pup retrieval, nest-building, and nursing [18, 19].

In order to identify changes on maternal behavior caused for the administration of OMEO we perform tests on lactating females that received the OMEO.

---

\*Corresponding author. Tel +5551 99227904.

E-mail address: lais.hjardim@gmail.com (L. H. Jardim).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Subjects

Male (40) and nulliparous adult female (120) Wistar rats (250–300 g) derived from Reproductive Center of Laboratory Animals (CREAL) of Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) were used in this study. The total number of animals of the major study of reproductive toxicity of OMEO was 150 Wistar rats, but in this experiment we make use of just 4 females of each group.

All rats were housed individually in 40cm × 33cm × 16,5cm polycarbonate cages under 12-h light/dark conditions (light on between 8:00 am and 8:00 pm). All animals were maintained under standard conditions of humidity (50% UR, ± 20%) and temperature (22 °C ± 3°C) and had free access to food and water in their home cages. All animal procedures were conducted in accordance to the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, and approved by the Federal University of Rio Grande do Sul Institutional Animal Care and Use Committee, number 23613.

### 2.2. *Origanum majorana* essential oil (OMEO)

OMEO was obtained by steam distillation using a modified Clevenger device and analyzed using a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer for identification and coupled to a flame ionization detector for quantification. A Durabond-DB5 non-polar column (30m x 0,25mm x 0,25µm) was used. Major constituents were  $\alpha$ - and  $\gamma$ -terpinene and 4-terpineol.

### 2.3. Groups and choice of doses

The study was done with four experimental groups, as follows: 1. Control group (tween 3%), 2. OMEO 33mg/kg/day, 3. OMEO 100mg/kg/day, 4. OMEO 300mg/kg/day.

The doses were administrated daily, orally (gavage), for 70 days before and during mating (21 days) on males and on females for 14 days before and during mating (until the female rat get pregnant), during pregnant period (approximately 21 days) and lactation period until the day 21 when we separated the mother from de litters.

Doses was chosen based on previous studies about antimicrobial activity of de OMEO that shows that 3g% of OMEO (300mg/kg/day OMEO dose) in vitro have antimicrobial activity on several microorganism [20].

On the beginning of the study was possible to see that 300mg/kg/day of OMEO has reproductive toxicity in males, so we decreased the doses to identify the minimum doses were the damages occurs. Because this study is part of an extensive study about the reproductive toxicity of the OMEO, we use the same doses to identify changes on maternal behavior.

Maternal behavior evaluation was performed with four females each group because of the pregnant index.

### 2.4. Procedure

The present study standardized a version of basic procedure similar to what has been described in Arrati et al., 2006 [21], Champagne et al., 2003 [22], Myers, 1989, [23] and Zhao and Li (2009a) [24].

Resuming, starting two or three days before the first possible expected parturition date, the subjects were monitored every day for signs of parturition [25]. The day on which the dam was found with pups at 09:00 a.m. was designated as Day 1 postpartum, and the day before as Day 0 postpartum. On Day 1 postpartum, each litter was culled to eight pups (4 males and 4 females) and all subjects were changed (moved) to clean observation cages with their litters.

Maternal behavior tests were conducted on Days 1, and 10 postpartum (PPD1 and PPD10) at the same time of day (around 9:00 am each day). Each test consisted of two phases. The first phase lasted 15 min which consisted of continuous observations of maternal behavior under the undisturbed condition. The second phase was a 20-min pup retrieval test starting immediately after the first undisturbed test. This phase was

initiated by taking mother away from the 8 pups and destroying the nest. One minute later, the mother was placed in the opposite corner of the cage diagonal where the pups were. At the end of the 20-min period, unretrieved pups were returned to the nest site. Both phases were recorded by video cameras and analyzed manually.

Experiments were conducted during the light cycle. Similarly to other studies that based their methods on the same as the present study, the following behaviors were recorded and analyzed: pup retrieval (a rat picking up a pup in her mouth and carrying it back to the nest site), pup nursing (a rat positioning herself over the pups with legs splayed to accommodate the pups, including hover, high, and lowcrouching-over postures), pup licking (a female rat placing its tongue on the anogenital area and the rest of a pup's body), nest building (a rat picking up nesting material in her mouth and transporting it back to the nest site or pushing the material with her forepaws toward the nest site).

### 2.5. Statistical analysis

The ongoing of this study is still happening, so the statistical analysis has not been done yet because the sample was not enough to have reliable results. So the inferences that was done in the study has to be confirmed increasing the sample number.

## 3. Results

### 3.1. Nest Building

To examine the effects that the OMEO could have on nest quality we compared the maternal behavior between the treated groups (33mg/kg/day and 100 mg/kg/day) with the control group.

The nest building behavior (when the rat picked up material in her mouth and transported back to the nest side or pushed material with her forepaws toward the nest side) was measured analyzing the quality of the new building nest.

It was recorded and analyze as the following rating scale: 0, absence of nest; 1 poor nest; 2 good nest with walls; 3 excellent nest. Although no statistics could be done, it seems to have a difference in the nest quality.

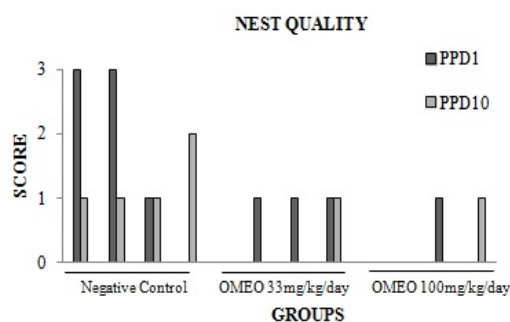


Fig. 1. Nest building quality after the nest were destroyed. Analysis by score scale as follows: 0, absence of nest; 1 poor nest; 2 good nest with walls; 3 excellent nest. PPD (post-partum day) 1 and 10.

### 3.2. Pup Nursing

To identify if the OMEO changes the nursing behavior we examined the duration of nursing behavior on 10 and 20 minutes of control group and two treated groups (33mg/kg/day and 100mg/kg/day) after the nest was destroyed. As shown in Fig. 2 there is not a clearly difference between the treated groups and the negative control, but is possible to see that the nursing behavior occurs in a large amount after 20 minutes, in both days (Fig 2, B).

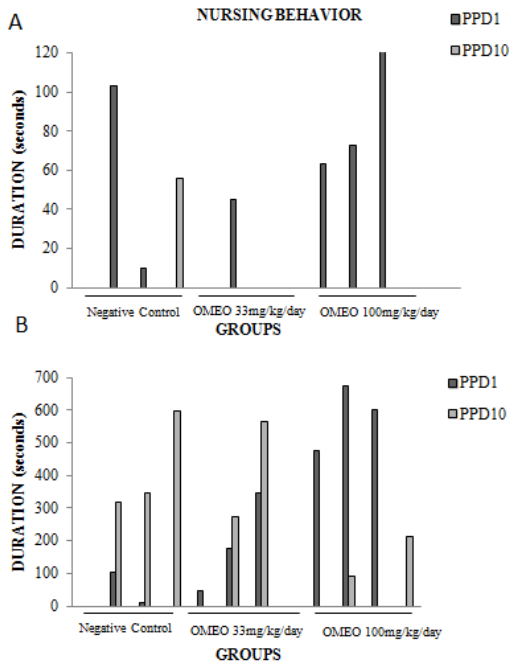


Fig. 2. Duration of nursing behavior after the nest were destroyed in 10 minutes (A) and in 20 minutes (B). PPD (post-partum day) 1 and 10.

3.3. Pup Licking

Licking was performed by all of the females (treated groups -33mg/kg/day and 100mg/kg/day- and control group) so we could see if the OMEO changes this component of maternal behavior and as can be seen there is a difference between the groups (Fig. 3), however the difference in (A) happens only in the lower administrated dose of OMEO (33mg/kg/day), so the distribution between groups is quite distinct. In Fig 3.B we can see that in control group the duration of this component of maternal behavior is higher than in the treated groups; but statistical analysis could not be done.

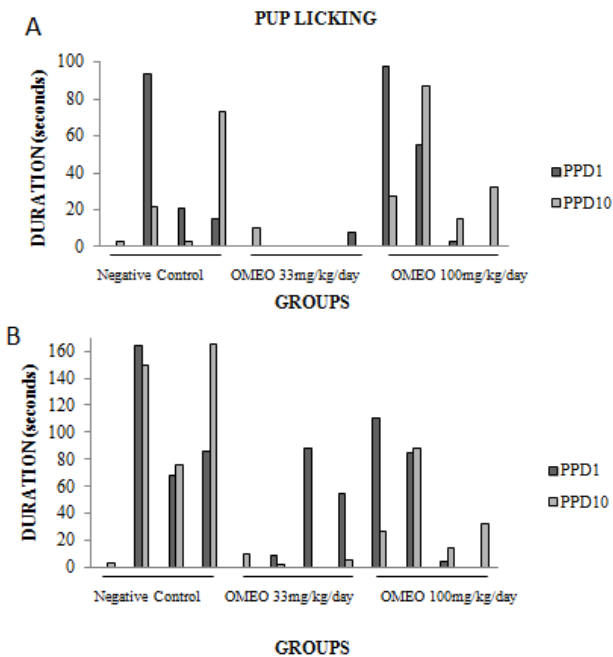


Fig. 3. Duration of pup licking behavior after the nest was destroyed in 10 minutes (A) and 20 minutes (B). PPD (post-partum day) 1 and 10.

3.4. Pup Retrieval

The pup retrieval behavior is a very important component of maternal behavior so we perform the test in all groups.

The test showed a decreased in retrieving the pups to the nest in the group that was treated when compared to the no treated group. (negative control group), but statistical analysis could not be done.

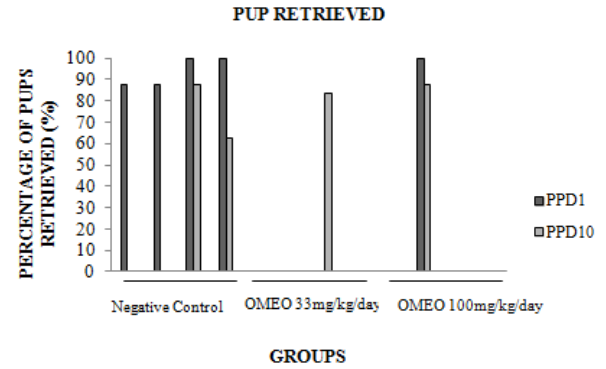


Fig. 4. Percentage of pups retrieved. Analysis was the same in 10 and 20 minutes. PPD (post-partum day) 1 and 10.

4. Discussion

In the present study, we showed results that suggest that OMEO disrupted maternal behavior components. The change of components of maternal behavior that is shown in the present study can occur for several reasons, but to now the specific pathways more studies are requested.

The regulation of maternal behavior in rat occurs in two phases [26]. The natural onset of maternal behavior occurs at parturition, and is controlled by several pregnancy-related hormones (estrogen, progesterone, prolactin and oxytocin). The maintenance phase of maternal behavior occurs during the postpartum period, and is controlled primarily by no hormonal factors (i.e., the multisensory stimuli provided by pups) [27].

Researchers have shown that dopamine (DA) is implicated in both the onset and maintenance of maternal care [28-35]. Lesion studies imply that DA neurons innervating the nucleus accumbens may be particularly important for locomotor aspects of maternal behavior like the pup retrieval response [30, 31]. But then, lesions in caudate-putamen (dorsal striatum) causes no effect on both the onset and maintenance of maternal behavior [30]. As known, the mesolimbic dopaminergic system is involved in motivational processes, such as reward and reinforcement [36]. Exposing maternal dams to pups (reinforcing stimuli), induce DA release in the nucleus accumbens and dorsal striatum [37].

Many evidence indicate that hormones prominent during pregnancy, such as prolactin, cholecystokinin and estrogen, have influence on the dopaminergic system [38-40].

Haloperidol (0.1 mg/kg) induced a reduction in percent of rats retrieving the pups to the nest and on the nest building quality, this substance block the DA D2-like receptor subtype (similarly changes to OMEO). Though clozapine, a substance that blocks the DA D4-like receptor, changes the nest quality, but the pup retrieval keeps unchanged. Suggesting that the difference is on the receptors [27]. This is one example that shows that it is not simple to identify what causes the changes on maternal behavior.

Maternal behavior in rats is a extremely motivated and well-organized social behavior. Given the identified roles of serotonin (5-HT) in emotion, motivation, social behavior, and major depression, and its known interaction with dopamine, it is possible that serotonin also plays a crucial role in the maternal behavior [25].

MK212, a 5-HT<sub>2c</sub> receptor agonist, have a disruptive effect on all four components of maternal behavior cited in the present study, but MDL100907, that is a 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist shows no difference on maternal behavior [25].

Changes on maternal behavior could happen by alterations at any of those pathways discussed above. It seems to be for an alteration on DA pathway (similarly changes as haloperidol), but with the information we elucidated until now it could not provide information on how the OMEO changes the maternal behavior.

## 5. Conclusion

The present study suggests that both treated groups (OME0 33mg/kg/day and OME0 100mg/kg/day treated groups) suffer changes in components of maternal behavior such as pup retrieval and nest building, disrupting this components. More tests need to be done to conclude what causes the change in this maternal behavior components.

## References

- [1] Al Dhaheeri, Y., et al., Mitotic arrest and apoptosis in breast cancer cells induced by *Origanum majorana* extract: upregulation of TNF-alpha and downregulation of survivin and mutant p53. *PLoS One*, 2013. 8(2): p. e56649.
- [2] Esen, G., et al., Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Letswaart from the Marmara region, Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007. 22(5): p. 371-376.
- [3] Busatta, C., et al., Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food microbiology*, 2008. 25(1): p. 207-211.
- [4] Daferera, D.J., B.N. Ziogas, and M.G. Polissiou, GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000. 48(6): p. 2576-2581.
- [5] El-Ashmawy, I.M., A.F. el-Nahas, and O.M. Salama, Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of *Origanum majorana* on lead acetate toxicity in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2005. 97(4): p. 238-43.
- [6] El-Ashmawy, I.M., A. Saleh, and O.M. Salama, Effects of marjoram volatile oil and grape seed extract on ethanol toxicity in male rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 2007. 101(5): p. 320-327.
- [7] Abd EMA, E.-M.N., Effect of marjoram leaves on injured liver in experimental rats. *Report and Opinion* 2010. ISSN: 1553-9873: p. 2(12):181-191.
- [8] Kessler, R.C., Epidemiology of women and depression. *J Affect Disord*, 2003. 74(1): p. 5-13.
- [9] Marcus, S.M., Depression during pregnancy: rates, risks and consequences--Motherisk Update 2008. *Can J Clin Pharmacol*, 2009. 16(1): p. e15-22.
- [10] Drevets, W.C.a., Richard D., Depression, Mania, and Related Disorders, in *Adult psychiatry* (2nd ed.), E.H.R.C.F. Zorumski, Editor. 2005, Blackwell Publishing: Malden. p. 91-129.
- [11] Atkinson, L., et al., Attachment security: a meta-analysis of maternal mental health correlates. *Clin Psychol Rev*, 2000. 20(8): p. 1019-40.
- [12] Lovejoy, M.C., et al., Maternal depression and parenting behavior: a meta-analytic review. *Clin Psychol Rev*, 2000. 20(5): p. 561-92.
- [13] Murray, L. and P.J. Cooper, Postpartum depression and child development. *Psychological medicine*, 1997. 27(2): p. 253-260.
- [14] Pilowsky, D.J., et al., Children of currently depressed mothers: a STAR\*D ancillary study. *J Clin Psychiatry*, 2006. 67(1): p. 126-36.
- [15] Deave, T., et al., The impact of maternal depression in pregnancy on early child development. *Bjog*, 2008. 115(8): p. 1043-51.
- [16] Nomura, Y., et al., Family discord, parental depression, and psychopathology in offspring: ten-year follow-up. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2002. 41(4): p. 402-9.
- [17] Palanza, P.L., et al., Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect*, 2002. 110 Suppl 3: p. 415-22.
- [18] Galef, B.G., Jr., Development of olfactory control of feeding-site selection in rat pups. *J Comp Physiol Psychol*, 1981. 95(4): p. 615-22.
- [19] Rosenblatt, J.S. and H.I. Siegel, Hysterectomy-induced maternal behavior during pregnancy in the rat. *J Comp Physiol Psychol*, 1975. 89(7): p. 685-700.
- [20] Santin, R., Potencial antifúngico e toxicidade dos óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis*. 2011, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS: Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
- [21] Arrati, P.G., et al., GABA receptor agonists in the medial preoptic area and maternal behavior in lactating rats. *Physiol Behav*, 2006. 87(1): p. 51-65.
- [22] Champagne, F.A., et al., Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiol Behav*, 2003. 79(3): p. 359-71.
- [23] Myers, M.M., et al., Maternal behavior of SHR rats and its relationship to offspring blood pressures. *Developmental psychobiology*, 1989. 22(1): p. 29-53.
- [24] Zhao, C. and M. Li, Sedation and disruption of maternal motivation underlie the disruptive effects of antipsychotic treatment on rat maternal behavior. *Pharmacol Biochem Behav*, 2009. 92(1): p. 147-56.
- [25] Chen, W.H., et al., Effects of 5-hydroxytryptamine 2C receptor agonist MK212 and 2A receptor antagonist MDL100907 on maternal behavior in postpartum female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014. 117: p. 25-33.
- [26] Numan, M.E.K., J Neill (Eds.), Maternal behavior, in *The physiology of reproduction*. 1994, Raven Press: New York. p. 221-302.
- [27] Silva, M.R.P., M.M. Bernardi, and L.F. Felício, Effects of dopamine receptor antagonists on ongoing maternal behavior in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2001. 68(3): p. 461-468.
- [28] Lonstein, J.S., et al., Forebrain expression of c-fos due to active maternal behaviour in lactating rats. *Neuroscience*, 1998. 82(1): p. 267-81.
- [29] Hansen, S., Maternal behavior of female rats with 6-OHDA lesions in the ventral striatum: characterization of the pup retrieval deficit. *Physiol Behav*, 1994. 55(4): p. 615-20.
- [30] Hansen, S., et al., Mesotelencephalic dopamine system and reproductive behavior in the female rat: effects of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on maternal and sexual responsiveness. *Behav Neurosci*, 1991. 105(4): p. 588-98.
- [31] Hansen, S., et al., The effects of 6-OHDA-induced dopamine depletions in the ventral or dorsal striatum on maternal and sexual behavior in the female rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 1991. 39(1): p. 71-7.
- [32] Bridges, R.S., Biochemical Basis of Parental Behavior in the Rat, in *Advances in the Study of Behavior*, S.R. Jay and T.S. Charles, Editors. 1996, Academic Press. p. 215-242.
- [33] Numan, M., Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Dev Psychobiol*, 2007. 49(1): p. 12-21.
- [34] Numan, M., et al., The effects of D1 or D2 dopamine receptor antagonism in the medial preoptic area, ventral pallidum, or nucleus accumbens on the maternal retrieval response and other aspects of maternal behavior in rats. *Behav Neurosci*, 2005. 119(6): p. 1588-604.
- [35] Febo, M., A.C. Felix-Ortiz, and T.R. Johnson, Inactivation or inhibition of neuronal activity in the medial prefrontal cortex largely reduces pup retrieval and grouping in maternal rats. *Brain Res*, 2010. 1325: p. 77-88.

- [36] Stern, J.M. and S.E. Keer, Maternal motivation of lactating rats is disrupted by low dosages of haloperidol. *Behav Brain Res*, 1999. 99(2): p. 231-9.
- [37] Fleming, A.S., et al., Activation of Fos-like immunoreactivity in the medial preoptic area and limbic structures by maternal and social interactions in rats. *Behav Neurosci*, 1994. 108(4): p. 724-34.
- [38] Bazzett, T.J. and J.B. Becker, Sex differences in the rapid and acute effects of estrogen on striatal D2 dopamine receptor binding. *Brain Res*, 1994. 637(1-2): p. 163-72.
- [39] Castner, S.A., L. Xiao, and J.B. Becker, Sex differences in striatal dopamine: in vivo microdialysis and behavioral studies. *Brain Res*, 1993. 610(1): p. 127-34.
- [40] Tieppo, C.A., et al., Opposite modulation of apomorphine- or amphetamine-induced stereotypy by antagonists of CCK receptors. *Eur J Pharmacol*, 2000. 387(2): p. 189-96.

### 3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A avaliação do comportamento materno proposta nesse trabalho foi padronizada segundo estudos semelhantes de Arrati *et al.* (2006), Champgne *et al.* (2003), Myers (1989) e Zhao e Li (2009a) que ocorreu da seguinte forma: acompanhamento nos dias 1 e 10 pós-parto (PPD1 e PPD10) antes de qualquer manipulação dos animais por 15 minutos antes da manipulação da maravalha e destruição do ninho, logo após foi realizada a retirada da fêmea e destruição do ninho, devolveu-se a fêmea na diagonal oposta em que os 8 filhotes foram colocados e posteriormente fez-se acompanhamento por mais 20 minutos após a reentrada da fêmea lactante. Este método parece adequado para mensurar alterações no comportamento da fêmea lactante em relação à progênie.

O presente estudo sugere que o óleo essencial de *Origanum majorana* nas concentrações testadas (33mg/kg/dia e 100mg/kg/dia) altera alguns dos componentes do comportamento materno, tais como retirada/busca dos filhotes e qualidade de construção do ninho, diminuindo claramente o percentual de filhotes recolhidos e a qualidade de construção do ninho depois de destruído nos dias 1 e 10 pós-parto (Fig. 1 e 2 do Trabalho Experimental).

Essas alterações podem estar relacionadas a um maior grau de ansiedade das mães após o estresse induzido pela destruição do ninho. Também pode ser correlacionado com desinteresse materno pelos filhotes ocasionado por alguma alteração neuroquímica.

Por exemplo o haloperidol (0,1mg/kg) induz uma redução no percentual de filhotes buscados e diminui a qualidade do ninho, pois este bloqueia receptores D2 de DA. A clozapina, todavia, diminui a qualidade do ninho, mas não altera o comportamento de retirada dos filhotes, indicando que a clozapina é mais sensível a um bloqueio na transmissão dopaminérgica em relação a qualidade de construção do ninho do que ao comportamento de retirada dos filhotes. Esta diferença possivelmente ocorre por alterações na via da DA em diferentes regiões do Sistema Nervoso Central (SILVA, 2001). O composto MK212, agonista do receptor de serotonina (5-HT<sub>2c</sub>), altera os todos



os principais componentes do comportamento materno, comportamento de retirada dos filhotes, qualidade da construção no ninho, amamentação dos filhotes e o comportamento de lambar os filhotes; sabe-se entretanto que o composto MDL100907, um antagonista do receptor 5-HT<sub>2A</sub>, por exemplo, não altera o comportamento materno, sendo assim ainda não está claro como que ocorrem as alterações no comportamento materno nesta via (CHEN *et al.*, 2014).

Houve uma pequena diminuição no comportamento de lambar os filhotes no grupo que foi tratado com OEOM 33mg/kg/dia quando avaliado por 10 minutos e uma pequena diminuição em ambos os grupos tratados (33mg/kg/dia e 100mg/kg/dia) quando o comportamento foi avaliado por mais tempo (20 minutos) em ambos os dias estudados, PPD1 e PPD10 (Fig. 3, do Trabalho Experimental).

Essa redução no comportamento de lambar pode estar relacionada a uma alteração na percepção olfativa das fêmeas lactantes pela administração do óleo essencial por via oral ou pode estar novamente correlacionada ao desinteresse ocasionado por alterações neuroquímicas na fêmea.

Alterações também podem ocorrer por mudanças em alguns comportamentos que atraem a atenção da mãe, como vocalizações e movimentos do corpo (POLAN; HOFER, 1999) e por estímulos olfatórios (MOORE, 1985; JANS; LEON, 1983a); todavia o principal estímulo é a presença dos filhotes. Mesmo que ocorram alterações no filhote que levem a mãe a ser menos estimulada, considera-se que a alteração no comportamento materno está relacionada à fêmea lactante e não a dificuldades que os filhotes possam apresentar ao interagirem com ela. Uma vez que os filhotes quando nascem são desprovidos de pelos, surdos e mudos, a progenitora é quem precisa interagir com os filhotes, independente da interação deles com ela, como citado anteriormente (LEON, 1971).

Trabalhos prévios ( CALDJI *et al.*, 1998; FRANCIS *et al.*, 1990b; LIU *et al.*, 1997) sugerem que haja diferenças individuais significativas em ratas lactantes quanto a frequência do comportamento de lambar os filhotes e de amamentação nos primeiro dez dias após o parto. Há casos de progenitoras que sem nenhum estímulo, lambem mais e amamentam mais seus filhotes. Filhotes que receberam cuidados destas

mães apresentam, quando adultos, uma maior sinaptogênese hipocampal e melhor desempenho em atividades de aprendizado (LIU *et al.*, 2000).

A avaliação realizada inclui quatro fêmeas lactantes de cada grupo. Todavia, o número amostral ainda não está fechado, precisando ser aumentado para que se obtenham resultados mais confiáveis e desta forma pode-se ser realizada a análise estatística. Pois estas diferenças individuais citadas acima podem alterar os resultados com um número amostral pequeno.

Como perspectivas do trabalho estão a realização de análises hormonais, visando identificar a via envolvida na alteração do comportamento materno pela administração do OEOM, bem como, a inclusão de testes avaliativos onde pode ser percebida a atração que os filhotes apresentam pela sua progenitora e adicionar por exemplo um bloqueador de dopamina como um controle positivo que alteraria o comportamento materno. Outra análise que seria muito interessante seria medir a quantidade de dopamina no estriado e no núcleo accumbens (locais em que a via dopaminérgica tem ação sobre o comportamento materno), pois desta maneira seria possível confirmar se esta é a via que o OEOM altera.

## BIBLIOGRAFIA

AL DHAHERI, Y.; ATTOUB, S.; ARAFAT, K.; ABUQAMAR, S.; VIALLET, J.; SALEH, A.; AL AGHA, H.; EID, A.; IRATNI, R. (2013). Anti-Metastatic and Anti-Tumor Growth Effects of Origanum majorana on Highly Metastatic Human Breast Cancer Cells: Inhibition of NF kappa B Signaling and Reduction of Nitric Oxide Production. **Plos One**, 8(7): 17, 2013

AL DHAHERI, Y.; EID, A.; ABUQAMAR, S.; ATTOUB, S.; KHASAWNEH, M.; AICHE, G.; HISAINDEE, S.; IRATNI R. Mitotic arrest and apoptosis in breast cancer cells induced by Origanum majorana extract: upregulation of TNF-alpha and downregulation of survivin and mutant p53. **Plos One**, 8(2): e56649, 2013.

AMORIM, M. F. D.; DINIZ, M. F. F. M.; ARAUJO, M. S. T.; PITA, J. C. L. R.; DANTAS, J. G.; RAMALHO, J. A.; XAVIER, A. L.; PALOMARO, T. V. e JUNIOR, N. L. B. The controvertible role of kava (Piper methysticum G. Foster) an anxiolytic herb, on toxic hepatitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17: 448-454, 2007.

ANISMAN, H.; ZAHARIA, M.D.; MEANEY, M. J.; MERALI, Z. Do early life permantly alter bahavioral and hormonal responses to stressors? **Internacional Journal of Developmental Neuroscience**, 16:149-164, 1998.

ARRATI, P. G.; CARMONA, C.; DOMINGUEZ, G.; BEYER, C.; ROSENBLANT, J. GABA receptors agonists in the medial preotic area and maternal behavior in lactating rats. **Physiology and Behavior**, v. 87, p.51-65, 2006.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Guia Para a Realização de Estudos de Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápico**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RESOLUÇÃO - RE Nº 90, 2014.

ASSAF, M. H.; ALI, A. A.; MAKBOUL, M. A.; BECK, J. P.; ANTON, R. Preliminary study of phenolic glycosides from Origanum majorana; quantitative estimation of arbutin; cytotoxic activity of hydroquinone. **Planta Med**, 53(4): 343-345, 1987.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, n.1, p.191-203, 2006.

BIRKE, L. I. A.; SADLER, D. Differences in maternal of rts and the sociosexual development of the offspring. **Development Psychobiology**, 10(1): 85-99, 1987.

BRIDGES, R. S. Biochemical Basis of Parental Behavior in the Rat. **Advances in the Study of Behavior**. Academic Press. Volume 25: 215-242, 1996.

BRUMMELTE, S.; GALEA, L. A. M. Depression during pregnancy and postpartum: contribution of stress and ovarian hormones. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, 34(5): 766-776, 2010b.

BRUNTON, P. J.; RUSSELL, J. A. The expectant brain: Adapting for motherhood. **Nature Reviews Neuroscience**, 9(1): 11-25, 2008.

CALDJI, C.; TANNENBAUM, B.; SHARMA, S; FRANCIS, D.; PLOTSKY, P. M.; MEANEY, M. J. Maternal care during infancy regulates the development of neural system mediating the expression of fearfulness in the rat. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95:5335-5340, 1998.

- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 33: 179-189, 2000.
- CHAMPAGNE, F.; FRANCIS, D.; MAR, A.; MEANEY, M. Variations in maternal care in the rats as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiology and Behavior**, v.79, p.359-371. 2003.
- HOMAR, J. C. [Complementary or alternative medicine? A dilemma for the public health system?]. **Aten Primaria**, 35(8): 389-391, 2005.
- CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, 71 Suppl 1: S58-65, 2000.
- CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18: 314-319, 2008.
- CASTRO, L. V. **Estudo Experimental em Ratos da Interação Mãe-Filhote Expostos a Agroquímicos**. Circular Técnica, EMBRAPA Meio Ambiente: 1-7, 2006.
- CHEN, W. H.; ZHANG, Q.; SU, W. X.; ZHANG, H. R.; YANG, Y.; QIAO, J.; SUI, N.; LI, M. Effects of 5-hydroxytryptamine 2C receptor agonist MK212 and 2A receptor antagonist MDL100907 on maternal behavior in postpartum female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 117: 25-33, 2014.
- COELHO, H. L. Farmacovigilância: um instrumento necessário. **Cadernos de Saúde Pública** 14: 871-875, 1998.
- CORDEIRO, C. H. G., CHUNG, M. C.; SACRAMENTO, L. V. S. d. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15: 272-278, 2005.
- DANTAS, A. S. **Estudo de Toxicidade Reprodutiva e Genotoxicidade do Óleo Essencial de *Origanum majorana***. Projeto de Pesquisa, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2012.
- DEL CERRO, M. C.; PEREZ-LASO, C.; ORTEGA, E.; MARTIN, J. L.; GOMEZ, F.; PEREZ-IZQUIERDO, M. A.; SEGOVIA, S. Maternal care counteracts behavioral effects of prenatal environmental stress in female rats. **Behav Brain Res**. 208, 593-02, 2010.
- EL-ASHMAWY, I. M.; EL-NAHAS, A. F.; SALAMA, O. M.;. Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of *Origanum majorana* on lead acetate toxicity in mice. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, 97(4): 238-243, 2005.
- FRANCIS, D. D.; DIORIO, J.; LAPLANTE, P.; WEAVER, S.; SECKEL, J.R.; MEANEY, M. J. The role of early environmental events in regulating neuroendocrine development. **Annals New Academy of Sciences**, 794:136-152, 1996.
- FRANCIS, D. D.; MEANEY, M. J.; Maternal care and the development of stress responses. **Current Opinion in Neurobiology** 9(1): 128-134, 1999.
- FRANCIS, D.D.; DIORIO, J.; LIU, D.; MEANEY, M.J. Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. **Science**, 286:1155-1158, 1999 (b).
- FRANCIS, D. D.; CHAMPAGNE, F.C.; MEANEY, M.J. Variation in maternal behavior are associated with differences in oxytocin receptor levels in the rat. **Journal of Neuroendocrinology**, 12: 1145-1148, 2000.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15: 178-182, 2005.

GALEA, L. A. M.; MCEWEN, B. S.; TANAPAT, P.; DEAK, T.; SPENCER, R. L.; DHABHAR, F. S. Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress." **Neuroscience**, 81(3): 689-697, 1997.

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

GUBERNICK, D. J.; ALBERTS, J.R. Maternal licking by virgin and lactating rats: water transfer from pups. **Physiology and Behavior**: 501-506, 1985.

GUIMARÃES, J. V., ANDRADE, L.; MEDEIROS, J. C. de. Programa fitoterápico Farmácia Viva no SUS-Betim, Minas Gerais / Farmácia Viva in SUS-Betim, Minas Gerais. **Divulg. saúde debate**, 36: 41-47, 2006.

HALLIGAN, S. L.; MURRAY, L.; MARTINS, C.; COOPER, P. J. Maternal depression and psychiatric outcomes in adolescent offspring: A 13-year longitudinal study. **Journal of Affective Disorders**, 97(1-3): 145-154, 2007.

HUOT, R. G. M.; LADD, C.; THRIVIKRAMAN, K.; PLOTSKY, P. Foster litters prevent hypothalamic-pituitary-adrenal axis sensitization mediated by neonatal maternal separation. **Psychoneuroendocrinology**, 29: 279-289, 2004.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; RASHEED, S.; NIGAM, P. S.; JANNEH, O.; SARKER, S. D. Composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 21: 943-952, 2011.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Aromatic natural raw materials – Vocabulary**. ISO 9235:1997. Geneva, 1997. 14p.

JANS, J. E.; LEON, M. Determinants of mother young contact in Norway rats. **Physiology & Behavior**, 30:919-935, 1983 (a).

KEN, H. **Drogas de origen vegetal - Mejorana**. Tratado de Farmacognosia, México, Editorial Atlante, 1951.

KOFMAN, O. The role of prenatal stress in etiology of developmental behavioral disorders. **Neurosci Biobehav Rev.** 26, 457-70, 2002.

KUHN, C. M.; BUTKER, S. R.; SCHANBERG, S. M.; Selective depression of serum growth hormone during maternal deprivation in rat pups. **Science**, 201: 1034-1036, 1978.

LEEJA, L.; THOPPIL, J. E. Antimicrobial activity of methanol extract of *Origanum majorana* L. (Sweet marjoram). **J Environ Biol**, 28(1): 145-146, 2007.

LEMONICA, I.; SANSEVERINO, M.; SPRITZER, D.; SCHÜLER-FACCINI, L. **Teratogênese experimental e sua aplicação em humanos**. Manual de teratogênese. Porto Alegre: UFRGS: 19-39, 2001.

LEON, M.; ADELS, L.; COOPERSMITH, R.; WOODSIDE, B. Diurnal cycle of mother-young contact in Norway rats. **Physiology and Behavior**: 999-1003, 1984.

LEON, M.; MOLTZ, H. Maternal Pheromone: discrimination by pre-weanling albino rats. **Physiology and Behavior**: 265-267, 1971.

LEUNG, A. Y. **Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics**. John Wiley & Sons Inc, 1980.

LEVINE, S.; Primary social relationships influence the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. **Physiology & Behavior**, 73: 255-260, 2001.

LIGHTMAN, S. L.; WINDLE, R. J.; WOOD, S. A.; KERSHAW, Y. M.; SHANKS, N.; INGRAM, C. D. Peripartum plasticity within the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. **Progress in Brain Research**. A. J. D. R. J. W. C. D. I. J.A. Russell, Elsevier (8). Volume 133: 111-129, 2001.

LIU, F. Antioxidant activity of garlic acid from rose flowers in senescence accelerated mice. **Life Sciences**, v.77, n.3, p.230-40, 2005.

LIU, D.; DIORIO, J.; TANNENBAUM, B., CALDJI, C.; FRANCIS, D.; FREEDMAN, A.; SHARMA, S.; PEARSON, D.; PLOTSKY, P. M.; MEANEY, M. J. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **Science**, 277:1659-1662, 1997

MACCARI, S.; MORLEY-FLETCHER, S. Effects of prenatal restraint stress on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and related behavioural and neurobiological alterations. **Psychoneuroendocrinology**, 32, Supplement 1(0): S10-S15, 2007.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MEANEY, M. J.; BHATNAGAR, S.; LAROCQUE, C. K.; MCCORMICK, C.; SHANKS, N.; SHARMA, S.; SMYTHE, J.; VIAU, V.; PLOTSKY, P. M. Individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response and the hypothalamic CRF system. **Annals New York Academy of Science**, 697:70-85, 1993.

MELLO, M. S. C. **Avaliação da toxicidade reprodutiva do pesticida trifetil hidróxido de estanho (TPTH) em camundongos**. Tese de Doutorado em Vigilância Sanitária, Fundação Oswaldo Cruz, 2007.

MYERS, M.M., *et al.*, Maternal behavior of SHR rats and its relationship to offspring blood pressures. **Developmental psychobiology**, 1989. 22(1): p. 29-53.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de ratos. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.411-24, 2004.

MOORE, C.L. Sex differences in urinary odors produced by young laboratory rats (*Rattus norvegicus*). **Journal of Comparative Psychology**, 99(3): 336-341, 1958.

MOORE, C.L.; POWER, K.L. Variations in maternal care and individual differences in play, exploration, and grooming of juvenile norway rat offspring. **Development Psychobiology**, 25(3): 165-182, 1992.

MOORE, C. L. The role of maternal stimulation in the development of sexual behavior and its neural basis. **Annals New York Academy of Sciences** 662: 160-177, 1992.

MOORE, C. L.; MORELLI, G.A. Mother rats interact differently with male and female offspring. **Journal of Comparative Physiological Psychology**, 93 (4): 677-684, 1979.

MURRAY, L.; COOPER, P. J. Postpartum depression and child development. **Psychological medicine**, 27(2): 253-260, 1997.

NOVAK, J.; BITSCH, C.; LANGBEHN, J.; PANK, F.; SKOULA, M.; GOTSIOU, Y.; FRANZ, C. M. Ratios of cis- and trans-sabinene hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Bentham) Vogel. **Biochemical Systematics and Ecology**, 28(7): 697-704, 2000.

NUMAN, M. Maternal behavior. **The Physiology of Reproduction**, N. J. Knobil E. New York, Raven Press: 221-302, 1994.

OECD. **The Validation of Test Methods Considered for Adoption as OECD Test Guidelines**, O. f. E. C.-o. a. D. OECD. Paris, ENV/MC/CHEM (98) 6, 1998.

POLAN, H. J.; HOFER, M. A. Maternal direct orienting behavior of newborns rats. **Development Psychobiology**, 34: 269-279, 1999.

- QUER, F. **Plantas Medicinales**. El Dioscórides Renovado, Editorial Labor: 1033, 1988.
- RAHMAN, S.; SINGHAL, K. Problems in pharmacovigilance of medicinal products of herbal origin and means to minimize them. **Uppsala Reports**, 17(Suppl): 1-4, 2002.
- RAMADAN, G.; EL-BEIH, N. M.; ZAHRA, M. M. Egyptian sweet marjoram leaves protect against genotoxicity, immunosuppression and other complications induced by cyclophosphamide in albino rats. **Br J Nutr**, 108(6): 1059-1068, 2012.
- REISBICK, S.; ROSENBLATT, J.S.; MAYER, A.D. Decline of maternal behavior in the virgin and lactating rat. **Journal of Comparative Physiological Psychology**: 722-732, 1975.
- RIBEIRO, M. R. A. **Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona e orégano**. Tese de Doutorado em Química, Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
- SANTIN, R. **Potencial antifúngico e toxicidade dos óleos essenciais de Origanum vulgare, Origanum majorana e Rosmarinus officinalis**. Projeto de Pesquisa, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2011.
- SARI, M.; BIONDI, D. M.; KAABECHE, M.; MANDALARI, G.; D'ARRIGO, M.; BISIGNANO, G.; SAIJA, A.; DAQUINO, C.; RUBERTO, G. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian Origanum glandulosum Desf. **Flavour and Fragrance Journal**, 21(6): 890-898, 2006.
- SCOTT, J. P. Critical periods in behavior development. **Science**, 138: 949-958, 1962.
- SILVEIRA, J.C, *et al.* Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.2038-2052, 2012.
- SILVA, M. **Utilização de Fitoterápicos nas Unidades Básicas de Saúde da Família (UBSF) no Município de Maracanaú-CE**, 2003.
- SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES, I. F. S.; SOUSA, F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16: 455-462, 2006.
- SILVA, M. R. P.; BERNARDI, M. M.; FELICIO, L. F. Effects of dopamine receptor antagonists on ongoing maternal behavior in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 68(3): 461-468, 2001.
- SIMÕES, C.; MENTZ, L.; SCHENKEL, E.; IRGANG, B.; STEHMANN, J. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Editora da Universidade, UFRGS, Porto Alegre, Brazil, 1998.
- SIMÕES, C.M.O; S, E. G. G., MELLO, J.C.P. de, MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2000.
- SOUSA, N.; LUKOYANOV, N. V.; MADEIRA, M. D.; ALMEIDA, O. F. X.; BARBOSA, M. M. P. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. **Neuroscience**, 97(2): 253-266, 2000.
- STERN, J. M.; JOHNSON, S.K. Ventral somatosensory determinants of nursing behavior in norway rats. I. Effects of variations in the quality and quantity of pup stimuli. **Physiology and Behavior**, 993-1011, 1990.
- TALGE, N. M.; NEAL, C.; GLOVER, V. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why? **J Child Psychol Psychiatry**, 48, 245-61, 2007.
- TORNER, L.; TOSCHI, N.; NAVA, G.; CLAPP, C.; NEUMANN, I. D. Increased hypothalamic expression of prolactin in lactation: Involvement in behavioural and neuroendocrine stress responses. **European Journal of Neuroscience**, 15(8): 1381-1389, 2002.

VAGI, E.; RAPAVI, E. M.; HADOLIN, K.; VASARHELYINE, P.; BALAZS, A.; BLAZOVICS, A.; SIMANDI, B. Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. **J Agric Food Chem**, 53(1): 17-21, 2005.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, n.1, p.44-84, 2007.

VEIGA, C. P.; MICZEK, K. A.; LUCION, A. B.; ALMEIDA, R. M. M. de. Effect of 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonists injected into the prefrontal cortex on maternal aggression in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 40(6): 825-830, 2007.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, 28(3): 519-528, 2005.

VEIGA JUNIOR, V. F. d. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18: 308-313, 2008.

VAN OERS, H. J.; DE KLOET, E. R.; WHELAN, T.; LEVINE, S. Maternal deprivation effect on the infant's neural stress markers is reversed by tactile stimulation and feeding but not by suppressing corticosterone. **The Journal of Neuroscience**, 18(23):10171-10179, 1998.

VON HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e Medicinais - Origanum vulgare L.** Icone Editora Ltda: 361, 1986.

ZHAO, C., LI, M. Sedation and disruption of maternal motivation underlie the disruptive effects of antipsychotic treatment on rat maternal behavior. **Pharmacol Biochem Behav**; 92:147-56, 2009 (a).