

DESENVOLVIMENTO PRÉ-EMBRIONÁRIO EM RATAS TRATADAS COM OXCARBAZEPINA NOS QUATRO PRIMEIROS DIAS APÓS A INSEMINAÇÃO

*M. DE O. GUERRA, L. E. G. DE OLIVEIRA, V. M. PETERS

Centro de Biologia da Reprodução - Universidade Federal de Juiz de Fora - MG

RESUMO – A oxcarbazepina é uma droga antiepiléptica de alta eficácia e poucos efeitos colaterais, mas pouco estudada quanto a seus efeitos durante a gestação humana e animal.

OBJETIVO. Verificar se a administração de oxcarbazepina em ratas, nos quatro primeiros dias após a inseminação, altera a viabilidade ou o desenvolvimento do pré-embrião.

MÉTODOS. Ratas Wistar foram tratadas com 20 ou 200 mg de oxcarbazepina/ Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1, 2, 3, ou 4 a partir da inseminação ou, consecutivamente, do 1º ao 4º. Os pré-embriões foram coletados no quinto dia, visando verificar a quantidade e o desenvolvimento até a fase de blastocisto expandido. O peso corporal materno e sinais como pelos eriçados e alteração de atividade locomotora foram anotados para verificar indícios de toxicidade materna. Número de corpos lúteos e peso de ovários

foram anotados com vistas à capacidade reprodutiva do animal.

RESULTADOS. Não ocorreram perdas de pesos corporais maternos e nenhuma alteração física indicativa de desconforto para as ratas. Peso de ovários e número de corpos lúteos não diferiram entre tratados e controles. O número médio de pré-embriões por mães, o índice de perdas embrionárias, a proporção de blastocistos expandidos com relação ao total de pré-embriões e a média de blastocistos expandidos/mãe, não diferiram entre tratados e controles.

CONCLUSÃO. A oxcarbazepina administrada em ratas, seguindo o esquema terapêutico mencionado, não apresentou efeito tóxico sobre a mãe e não alterou o desenvolvimento do pré-embrião.

UNITERMOS: Oxcarbazepina. Pré-embrião. Rata.

INTRODUÇÃO

Cerca de 0,5% de mulheres gestantes são epiléticas e precisam usar anticonvulsivantes continuamente já que com a interrupção do tratamento podem surgir crises convulsivas e conseqüente risco fetal por hipóxia intra-uterina^{1,2}. Entretanto, drogas antiepilépticas eficientes como o ácido valproico e a carbamazepina têm apresentado efeito teratogênico em humanos^{3,4}. Embora o efeito teratogênico também possa ser atribuído a fatores genéticos, associados com a própria enfermidade⁵, o fato é que fetos de mães epiléticas estão sujeitos a um risco duplo – a

epilepsia e as drogas anticonvulsivantes⁶.

A oxcarbazepina (OXC) é uma nova droga anticonvulsivante, estruturalmente relacionada à carbamazepina, que exhibe espectro farmacológico e potência semelhantes à da carbamazepina, porém com menor frequência de efeitos colaterais⁷⁻¹⁰.

Há relato de um caso de tratamento monoterápico com OXC (300mg/3 vezes ao dia), efetuado inadvertidamente desde o terceiro mês de gestação, que resultou em um recém-nascido saudável¹¹. Além disso, um estudo retrospectivo de 947 pacientes tratadas com OXC mostrou que em 12 gestações, nove recém-nascidos eram saudáveis¹², não havendo informações sobre os três casos restantes.

São escassos os estudos em animais de laboratório, visando a avaliação do potencial teratogênico da OXC. Há um relato de

que seria desprovida de efeitos sobre a fertilidade de ratos e de camundongos; de teratogenicidade e, que nenhum efeito cognitivo indesejável seria evidenciável, quando a administração ocorreu no estágio final da gestação ou no período de lactação¹³. A referência trata de trabalhos do laboratório produtor do medicamento, apresentados em relatórios internos e sobre os quais não foram encontradas publicações na literatura. Outra publicação menciona que não ocorreu diferença significativa no índice de malformações, quando foram comparadas ratas controles e tratadas com 1.100mg de OXC/Kg/dia¹⁴.

Não foram encontrados estudos visando a fase inicial do desenvolvimento embrionário, quando a morte do pré-embrião, pode não ser detectada e, assim, confundida com infertilidade.

*Correspondência:

R. São Matheus, 711 - aptº 103-C - Cep: 36026-001
Juiz de Fora/MG - Tel.: (32) 229-3253
E-mail: moguerra@cbr.ufjf.br

Dada a necessidade de informações sobre as conseqüências do uso da OXC durante todo o período de gestação, nesse trabalho pretende-se verificar se a administração do medicamento em ratas interfere com o desenvolvimento do pré-embrião durante o seu trânsito pelo oviduto.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais de experimentação

Foram usadas ratas, originalmente Wistar, com três meses de idade, da colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução – Universidade Federal de Juiz de Fora, pesando em média 180 a 200g.

Procedimento Experimental

Os animais foram acasalados com machos de fertilidade previamente comprovada e a presença de espermatozóide no esfregaço vaginal foi considerada indicativa de inseminação, sendo este dia designado o primeiro pós-fertilização^{15,16}.

As ratas inseminadas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos: controle, tratado-20 (T-20) e tratado-200 (T-200). O grupo controle recebeu 0,5ml de água destilada, o grupo T-20, 20mg de oxcabazepina diluída em 0,5 ml de água destilada /Kg de peso corporal e o grupo T-200, 200mg de oxcabazepina /Kg de peso corporal. Água e oxcabazepina foram administradas por sonda gástrica às 9h e às 12h.

As doses escolhidas foram baseadas na dose terapêutica preconizada para o ser humano (1200 mg/dia), e nas doses usadas para o estudo do efeito anticonvulsivante em ratos: 5, 10, 30, 60mg¹⁷ e 40 ou 80 mg OXC / Kg de peso corporal de rato¹⁸.

Avaliação do desenvolvimento pré-embriário

Para a avaliação do pré-embrião, durante o seu trajeto pelo oviduto até a chegada ao útero, foram realizados os seguintes experimentos (cada experimento compreendeu um lote de 15 animais):

Tabela 1 - Peso corporal de ratas Wistar tratadas com 20 mg ou 200 mg de oxcabazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós- inseminação, e de controles que receberam 0,5 ml de água destilada pela mesma via e nos mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Peso Corporal (g)			
		Início do tratamento		Sacrifício	
I	Controle	173,4 ± 10,2	(15)	180,3 ± 12,2	(15)
	Tratado - 20	177,3 ± 15,1	(15)	185,9 ± 15,7	(15)
	Tratado - 200	175,9 ± 13,8	(16)	181,1 ± 15,6	(16)
II	Controle	171,6 ± 14,5	(15)	175,7 ± 14,9	(15)
	Tratado - 20	181,7 ± 15,7	(15)	186,9 ± 16,5	(15)
	Tratado - 200	178,7 ± 11,3	(17)	183,3 ± 11,3	(17)
III	Controle	172,7 ± 14,3	(15)	176,9 ± 13,7	(15)
	Tratado - 20	180,1 ± 15,9	(15)	181,9 ± 16,7	(15)
	Tratado - 200	184,5 ± 13,6	(15)	186,3 ± 13,2	(15)
IV	Controle	168,4 ± 15,8	(17)	166,9 ± 15,7	(17)
	Tratado - 20	180,5 ± 14,9	(15)	180,2 ± 12,8	(15)
	Tratado - 200	182,7 ± 13,8	(15)	181,5 ± 13,3	(15)

Resultados expressos em média ± desvio padrão, () n.º de casos estudados.

Tabela 2 - Peso corporal de ratas Wistar tratadas com 20 mg ou 200 mg de oxcabazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, do 1º ao 4º dia pós- inseminação, e de controles que receberam 0,5 ml de água destilada pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Grupos	Peso Corporal (g)					
	Início do tratamento		Fim do Tratamento		Sacrifício	
Controle	165,4 ± 10,4	(15)	169,1 ± 12,4	(15)	171,6 ± 12,4	(15)
Tratado - 20	172,1 ± 10,9	(15)	176,9 ± 12,2	(15)	179,6 ± 12,7	(15)
Tratado - 200	176,6 ± 6,4	(14)	176,5 ± 5,8	(14)	178,4 ± 6,8	(14)

Resultados expressos em média ± desvio padrão, (?) n.º de casos estudados.

Experimento I: Tratamento das ratas no 1º dia pós-inseminação.

Experimento II: Tratamento das ratas no 2º dia pós-inseminação

Experimento III: Tratamento das ratas no 3º dia pós-inseminação

Experimento IV: Tratamento das ratas no 4º dia pós-inseminação.

Experimento V: Tratamento das ratas nos dias 1, 2, 3 e 4 pós-inseminação.

As ratas foram pesadas no dia do tratamento e no dia do sacrifício (5º dia de gestação) que foi feito por excesso de inalação de éter. O grupo tratado desde o primeiro até o quarto dia foi pesado no início do tratamento, no término e no dia do sacrifício.

Durante todo o experimento os animais foram examinados para avaliar sinais clínicos de toxicidade materna (mortes, piloereção e alteração na locomoção)¹⁹.

Para a coleta de pré-embriões, foram usadas as técnicas de coleta e exame de estruturas embrionárias conforme descrito por Forcelledo, Vera, Croxatto²⁰ e Ortiz, Lladós, Croxatto²¹. Através dessa técnica os ovidutos e cornos uterinos, expostos por laparotomia, são removidos para uma placa de Petri, contendo soro fisiológico. Os ovidutos são separados da extremidade tubária do corno uterino e ambos são canulados com sonda apropriada por onde se perfunde solução salina. Os lavados tubários e uterinos são recolhidos em cápsulas embrionárias, para posterior exame dos pré-embriões.

Cada cápsula embrionária foi examinada para contagem do número de pré-embriões e para avaliação do seu desenvolvimento até a fase de blastocisto expandido.

Os ovários são examinados sob lupa para contagem dos corpos lúteos, estabelecendo-se a relação entre corpos lúteos e pré-embriões para a determinação do índice de perdas embrionárias (IPE = 1 - pré-embriões/corpos lúteos X 100).

Tabela 3 - Número de corpos lúteos nos ovários de ratas Wistar tratadas com 20 mg ou 200 mg de oxcarbazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-inseminação, e do 1º ao 4º dia pós-inseminação, e de controles tratadas com 0,5 ml de água destilada pela mesma via e mesmo dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Números de Corpos Lúteos no Ovário		
		Direito	Esquerdo	Total
I	Controle	6,3 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,4 (15)	11,4 ± 1,1 (15)
	Tratado - 20	6,9 ± 1,6 (15)	5,3 ± 1,8 (15)	12,2 ± 1,8 (15)
	Tratado - 200	7,1 ± 1,7 (16)	4,9 ± 1,7 (16)	12,1 ± 1,9 (16)
II	Controle	5,9 ± 2,0 (15)	5,8 ± 1,8 (15)	11,7 ± 1,4 (15)
	Tratado - 20	6,5 ± 1,4 (15)	5,8 ± 1,8 (15)	12,3 ± 1,7 (15)
	Tratado - 200	5,9 ± 2,1 (17)	5,2 ± 1,9 (17)	11,2 ± 1,3 (17)
III	Controle	7,0 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,3 (15)	12,2 ± 1,8 (15)
	Tratado - 20	6,1 ± 1,3 (15)	6,3 ± 1,9 (15)	12,4 ± 1,4 (15)
	Tratado - 200	7,7 ± 1,8 (15)	5,2 ± 1,9 (15)	13,5 ± 2,0 (15)
IV	Controle	6,1 ± 1,6 (17)	4,9 ± 2,0 (17)	11,0 ± 1,8 (17)
	Tratado - 20	6,5 ± 1,2 (15)	5,4 ± 1,3 (15)	11,9 ± 1,2 (15)
	Tratado - 200	6,6 ± 2,3 (15)	5,5 ± 1,5 (15)	12,1 ± 1,5 (15)
V	Controle	6,2 ± 1,5 (15)	5,4 ± 2,2 (15)	11,6 ± 1,5 (15)
	Tratado - 20	6,5 ± 1,6 (15)	5,7 ± 1,7 (15)	12,1 ± 1,5 (15)
	Tratado - 200	6,4 ± 1,7 (14)	5,2 ± 1,5 (14)	11,6 ± 1,1 (14)

Resultados expressos em média ± desvio padrão, () nº de casos estudados.

Processamento estatístico

Pesos maternos antes e depois do tratamento são comparados pelo teste "t" de Student pareado; o número de pré-embriões coletados foi comparado por Anova, seguida de teste de Dunnet ($\alpha = 0,05$). A proporção de blastocistos expandidos em relação ao total de pré-embriões coletados e o índice de perdas de pré-embriões foram comparados pelo teste do Qui quadrado ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

O tratamento das ratas com oxcarba-

zepina não causou mortes maternas nem alteração de atividade locomotora ou piloereção. O peso corporal das mães não se reduziu após a administração de oxcarbazepina ou de água destilada, conforme pode ser verificado na tabela 1.

Na tabela 2 encontra-se o peso corporal de ratas que foram tratadas em dias consecutivos após a fertilização, iniciando no primeiro e terminando no quarto dia. Nota-se que não houve perda de peso corporal entre o dia do tratamento e o do sacrifício.

A tabela 3 mostra o número médio de corpos lúteos por ovário e o número total,

Tabela 4 - Peso (g) de ovários de ratas Wistar tratadas com 20 mg ou 200mg de oxcarbazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós- inseminação, e do 1º ao 4º dia pós- inseminação, e de controles que receberam 0,5 ml de água destilada pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Peso de Ovários*			
		Direito		Esquerdo	
I	Controle	173,4 ± 10,2	(15)	180,3 ± 12,2	(15)
	Tratado - 20	0,022 ± 0,004	(15)	0,019 ± 0,003	(15)
	Tratado - 200	0,025 ± 0,003	(15)	0,021 ± 0,003	(15)
II	Controle	0,027 ± 0,004	(16) **	0,022 ± 0,003	(16)
	Tratado - 20	0,023 ± 0,004	(15)	0,023 ± 0,003	(15)
	Tratado - 200	0,026 ± 0,004	(15)	0,025 ± 0,004	(15)
III	Controle	0,023 ± 0,005	(17)	0,020 ± 0,003	(17) **
	Tratado - 20	0,024 ± 0,004	(15)	0,020 ± 0,002	(15)
	Tratado - 200	0,022 ± 0,003	(15)	0,021 ± 0,004	(15)
IV	Controle	0,028 ± 0,004	(15) ***	0,023 ± 0,005	(15)
	Tratado - 20	0,025 ± 0,004	(17)	0,022 ± 0,006	(17)
	Tratado - 200	0,026 ± 0,005	(15)	0,023 ± 0,003	(15)
V	Controle	0,025 ± 0,005	(15)	0,021 ± 0,003	(15)
	Tratado - 20	0,022 ± 0,003	(15)	0,021 ± 0,004	(15)
	Tratado - 200	0,024 ± 0,004	(15)	0,021 ± 0,004	(15)
V	Controle	0,021 ± 0,003	(14)	0,019 ± 0,002	(14)
	Tratado - 20	0,021 ± 0,003	(14)	0,019 ± 0,002	(14)
	Tratado - 200	0,021 ± 0,003	(14)	0,019 ± 0,002	(14)

Resultados expressos em média ± desvio padrão, () n.º de casos estudados.

** p < 0.05 em relação ao grupo controle (Teste de Dunnet)

*** p < 0.05 em relação ao grupo controle (Teste de Dunnet)

nos dois ovários, de ratas submetidas aos diferentes experimentos. Nota-se que não ocorreram diferenças significativas nos números de corpos lúteos encontrados em cada ovário ou quando se efetuou a soma dos corpos lúteos dos dois ovários.

O peso médio dos ovários, em cada grupo experimental, está expresso na tabela 4, onde se observa que os ovários dos animais tratados com 200 mg de oxcarbazepina / Kg de peso corporal, foram mais

pesados que os de controle, nos experimentos I e III. O ovário esquerdo dos mesmos animais foram menores que os controles no experimento II. Nos lavados de tuba uterina não foram encontrados pré-embriões.

A média de pré-embriões por corno uterino e em ambos cornos, encontra-se expressa na tabela 5. Comparativamente aos grupos controles, os animais tratados com oxcarbazepina não apresentaram dife-

rença no número de pré-embriões ou estes foram mais numerosos (Experimento I e II) que nos controles.

O índice de perdas pré-embriônicas em cada grupo experimental, encontra-se expresso na tabela 6. Verifica-se que a perda embrionária foi semelhante nos grupos controle e tratados.

A tabela 7 apresenta o percentual de blastocistos expandidos encontrados nos cornos uterinos direito e esquerdo, a partir da equação (Blastocistos expandidos / Total de pré-embriões) x 100. Não há diferença significativa entre os grupos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

No presente trabalho tratou-se de avaliar se a oxcarbazepina, administrada em ratas durante o período pré-embriônico, causaria sua morte ou alteração do desenvolvimento até a fase de blastocisto.

Em estudos de tal natureza é importante dissociar a existência de efeitos tóxicos sobre a mãe, já que isto, por si só, poderia causar alterações do desenvolvimento embrionário¹⁹.

Não foram observadas mortes maternas ou alteração de atividade locomotora e presença de pêlos eriçados, indicativos de toxicidade e desconforto físico dos animais¹⁹. Como pode ser verificado pelas tabelas 1 e 2, o tratamento efetuado com a oxcarbazepina não causou perda de peso nas mães. Em conjunto, tais dados indicam que, sob o ponto de vista de uma abordagem clínica¹⁹, a oxcarbazepina não tem efeito tóxico sobre as mães.

Outra análise importante é verificar se a capacidade reprodutiva materna está se desenvolvendo de maneira uniforme entre os grupos experimentais.

Os corpos lúteos são a fonte principal de secreção de progesterona¹⁶ e já foi demonstrado que o seu crescimento está intimamente correlacionado com o aumen-

to de secreção de progesterona e 20-hidroxi-progesterona²², hormônios que mantém a gestação da rata. Além disso, os pesos de ovários são muito dependentes do número e do volume dos corpos lúteos, que aumentam ao longo da gestação²³.

Por fim, Inman & Markivee²⁴ já demonstraram que o número de corpos lúteos é uma boa evidência do número de ovulações. Como pode ser verificado na tabela 4, o peso dos ovários, na sua maioria, foi semelhante quando comparados nos três grupos experimentais. A diferença estatística encontrada não tem significado biológico e deve ser atribuída ao fato de haver maior número de corpos lúteos em um dos ovários. Porém, quando se considera o total de corpos lúteos nos dois ovários (tabela 3), nota-se que o seu número médio não variou entre os grupos experimentais. Consequentemente, os mecanismos neuroendócrinos responsáveis pela ovulação estão funcionando de maneira uniforme em ratas de todos os grupos experimentais e quaisquer alterações observadas após o tratamento podem ser imputadas a alterações provocadas pelo agente examinado.

Dado que existe uma correlação entre o número de corpos lúteos e o número de ovulações, é habitual que o primeiro também seja correlacionado com o número de pré-embriões²⁵, pois pressupõem-se que cada ovulação libera um ovócito que pode ser fecundado e viabilizar-se em um pré-embrião. O índice de perdas pré-embriônicas estabelece a relação entre as duas variáveis e, como se depreende dos dados exibidos na tabela 5, a administração de oxcarbazepina não modificou o índice de perdas pré-embriônicas.

As alterações no desenvolvimento do pré-embrião podem ser devidas a lesão direta ou indireta do agente tóxico. No primeiro caso, a lesão é diretamente sobre o conceito e na segunda, pode decorrer de alterações da secreção tubárias ou de mo-

Tabela 5 - Número de pré-embriões nos cornos uterinos de ratas Wistar tratadas com 20 mg ou 200 mg de oxcarbazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-inseminação, e do 1º ao 4º dia pós-inseminação, e de controles que receberam 0,5 ml de água destilada pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Pré-embriões nos cornos uterinos		
		Direito	Esquerdo	Total
I	Controle	4,7 ± 1,9 (15)*	5,1 ± 1,4 (15)	11,4 ± 1,1 (15)*
	Tratado - 20	6,1 ± 1,6 (15)	5,3 ± 1,8 (15)	12,2 ± 1,8 (15)
	Tratado - 200	6,2 ± 1,7 (16)	4,9 ± 1,7 (16)	12,1 ± 1,9 (16)
II	Controle	4,9 ± 2,0 (15)	5,8 ± 1,8 (15)	11,7 ± 1,4 (15)**
	Tratado - 20	6,0 ± 1,4 (15)	5,8 ± 1,8 (15)	12,3 ± 1,7 (15)
	Tratado - 200	5,2 ± 2,1 (17)	5,2 ± 1,9 (17)	11,2 ± 1,3 (17)
III	Controle	6,1 ± 1,9 (15)	5,1 ± 1,3 (15)	12,2 ± 1,8 (15)
	Tratado - 20	5,3 ± 1,3 (15)	6,3 ± 1,9 (15)	12,4 ± 1,4 (15)
IV	Tratado - 200	6,5 ± 1,8 (15)	5,9 ± 1,9 (15)	13,5 ± 2,0 (15)
	Controle	5,2 ± 1,6 (17)	4,9 ± 2,0 (17)	11,0 ± 1,8 (17)
	Tratado - 20	5,8 ± 1,2 (15)	5,4 ± 1,3 (15)	11,9 ± 1,2 (15)
V	Tratado - 200	5,3 ± 2,3 (15)	5,5 ± 1,5 (15)***	12,1 ± 1,5 (15)
	Controle	5,4 ± 1,5 (15)	5,4 ± 2,2 (15)	11,6 ± 1,5 (15)
	Tratado - 20	5,4 ± 1,6 (15)	5,7 ± 1,7 (15)	12,1 ± 1,5 (15)
	Tratado - 200	5,6 ± 1,7 (14)	5,2 ± 1,5 (14)	11,6 ± 1,1 (14)

Resultados expressos em média ± desvio padrão, () nº de casos estudados.

* $p < 0.05$ em relação aos grupos tratado-20 e tratado-200 (Teste de Dunnett)

** e *** $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (Teste de Dunnett)

dificação do tempo de transporte até o útero, prejudicando a sincronia necessária da fase do desenvolvimento embrionário, assim como a preparação do endométrio, necessária a implantação²⁶.

O recolhimento de menor quantidade de pré-embriões, comparativamente a um grupo de mães não-expostas, indica mortes do conceito ou retenção no oviduto. A presença de pré-embriões em fase atrasada de seu desenvolvimento, leva à suspeita de ação lesiva que retardou o seu processo de

segmentação ou que acelerou seu trânsito pelo oviduto.

Quando se observa a tabela 6, verifica-se que a administração de oxcarbazepina não altera o número de blastocistos expandidos coletados. Tais dados são indicativos de que a administração do antiepiléptico não altera os processos de fertilização, clivagem, desenvolvimento de mórula e de blastocisto.

Outro fator de morte do pré-embrião, refere-se ao transporte tubário que é feito

por etapas, sendo que, inicialmente o pré-embrião permanecerá por 2 a 5 dias num ambiente especial, isolado do restante do trato reprodutor pela oclusão de duas junções do oviduto - istmo-ampolar e útero-tubária, onde ele encontra os nutrientes e as condições adequadas ao seu desenvolvimento normal^{27,28}. Neste período atinge a fase de blastocisto expandido e passa para o útero, onde se implantará.

O transporte do pré-embrião pode ser alterado por diferentes motivos, entre eles modificação na contractilidade das fibras musculares da tuba uterina²⁹⁻³¹ que pode ser alterada por prostaglandinas, produzidas localmente ou pelo pré-embrião^{32,33} ou por esteróides sexuais já que o estrogênio acelera o transporte e a progesterona o retarda^{25,34-37,28}.

Nenhum de tais fatores parece ter sido alterado pela administração de oxcarbazepina visto que tanto o número de pré-embriões recolhidos quanto a média de blastocistos expandidos foi semelhante em todos os grupos estudados. Assim, pode-se dizer que a administração de OXC em ratas, não parece alterar os mecanismos fisiológicos envolvidos com a fertilização, a clivagem e a evolução até blastocisto expandido.

Pode-se, portanto, concluir que, no modelo experimental utilizado nesse trabalho, não existem evidências de toxicidade da oxcarbazepina para a mãe ou para os pré-embriões em desenvolvimento.

SUMMARY

Pre-embryo development in rats treated with oxcarbazepine in the first four days after insemination

Oxcarbazepine is a highly efficacious antiepileptic drug which has very few side effects and has been poorly investigated as to its effects during human and animal gestation.

Tabela 6 - Índice de perdas de pré-embriões (IPE) em ratas Wistar tratadas com 20 mg ou 200 mg de oxcarbazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1, 2, 3 ou 4 pós-inseminação, e do 1º ao 4º dia pós-inseminação, e de controles que receberam 0,5 ml de água destilada pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	IPE (%) TUD	TUE	Total
I	Controle	25,3	14,5	20,5
	Tratado-20	12,5	15,2	13,7
	Tratado-200	12,3	12,6	12,4
II	Controle	16,8	13,8	15,3
	Tratado-20	8,2	11,5	9,7
	Tratado-200	12,9	11,1	17,8
III	Controle	12,4	14,8	14,2
	Tratado-20	13,2	12,6	12,9
	Tratado-200	15,5	12,5	14,3
IV	Controle	15,4	9,5	12,8
	Tratado-20	11,2	19,7	15,1
	Tratado-200	19,2	16,9	18,7
V	Controle	12,9	18,5	15,5
	Tratado-20	16,5	15,3	15,9
	Tratado-200	13,3	12,3	12,9

$$IPE = (1 - Total\ de\ pré-embriões / Total\ de\ corpos\ lúteos) \times 100$$

TUD = tuba uterina direita TUE = tuba uterina esquerda

Não há diferença significativa entre os grupos.

PURPOSE. To verify if the administration of oxcarbazepine to female rats in the first four days after fertilization alters the viability or development of the pre-embryo.

METHODS. Wistar rats were treated with 20 or 200mg oxcarbazepine/Kg body weight by oral gavage, 1,2,3, or 4 days after insemination or, consecutively, from the first to de fourth day aiming at verifying the amount and the development up to the expanded blastocyst stage. Maternal body weight and signs such as hair bristling and alteration of the locomotion activity were observed in order to verify any signs of maternal toxicity. A number of corpora

lutea and ovaries weight were noted for the analysis of the animal reproductive capacity.

RESULTS. Neither maternal body weight losses nor any physical alteration indicative of discomfort to the rats was observed. Ovaries weight and number of corpora lutea did not differ between treated and control animals. The average of pre-embryos per mother, the index of embryonic losses, the proportion of expanded blastocysts in relation to the total number of pre-embryos and the average of expanded blastocyst/mother did not differ between treated and control animals.

CONCLUSIONS. The data indicate that

Tabela 7 - Percentual de blastocistos expandidos obtidos de cornos uterinos de ratas Wistar tratadas com 20mg ou 200mg de oxcarbazepina / Kg de peso corporal, via gástrica, nos dias 1,2,3 ou 4 pós-inseminação, e do 1º ao 4º dia pós-inseminação, e de controles que receberam 0,5ml de água destilada pela mesma via e mesmos dias de tratamento.

Experimentos	Grupos	Percentual de Blastocistos	
I	Controle	91,4	(139/152)
	Tratado - 20	90,5	(143/158)
	Tratado - 200	89,9	(152/169)
II	Controle	88,6	(132/149)
	Tratado - 20	97,0	(162/167)
	Tratado - 200	92,8	(155/167)
III	Controle	94,3	(148/157)
	Tratado - 20	91,3	(148/162)
	Tratado - 200	95,4	(166/174)
IV	Controle	97,6	(161/165)
	Tratado - 20	93,4	(142/152)
	Tratado - 200	96,6	(144/149)
V	Controle	93,2	(137/147)
	Tratado - 20	97,4	(149/153)
	Tratado - 200	92,2	(131/142)

oxcarbazepine administered to female rats following the therapeutic procedure mentioned above, did not show any toxic effect on the mother and did not alter the pre-embryo development. [Rev Ass Med Bras; 46(4): 346-53]

KEY WORDS: Oxcarbazepine. Pre-embryo. Rat.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao Dr. Marcelo Que-sado o fornecimento de oxcarbazepina; ao excelente trabalho técnico da Bióloga Evelise Rocha de Souza e do Sr. Paulo Sérgio do Carmo; à versão para o inglês do resumo em português, realizado pela Prof. Rita de Cássio da Silveira e Sá e à FAPEMIG pelo auxílio CBS – 680/97.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hill LM. Effects of drugs and chemicals on the fetus and newborn. Mayo Clin. Proc., 1984; 59: 755-65, apud Castro JRS, Rodrigues AMR. Anticonvulsivantes. In: Bedran JN ed. O uso de drogas na gravidez e na lactação. Rio de Janeiro, Guanabara, 1988; 122-33.
- Svigos JM. Epilepsy and pregnancy. Austr. N. Z. J. Obstet. Gynaecol., 1984; 24: 182-184 apud Castro JRS, Rodrigues AMR. Anticonvulsivantes. In: Bedran, JN ed. O uso de drogas na gravidez e na lactação. Rio de Janeiro, Guanabara, 1988; 122-33.
- Counstan DR, Mochizuki TK. Handbook for prescribing medication during pregnancy. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1998; 99-101.
- Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. A reference guide to fetal and neonatal risks. Drugs in pregnancy and lactation. 5th ed. New York, Lippincott Williams & Wilkins, 1998; 139-143. 1092-9.
- Kelly TE, Edwards P, Rein M. Teratogenicity of antiepileptic drugs. Am. J. Med. Genet., 1984; 19: 451-58 apud Castro JRS, Rodrigues AMR. Anticonvulsivantes. In: Bedran JN ed. O uso de drogas na gravidez e na lactação. Rio de Janeiro, Guanabara, 1988; 122-33.
- Lewis PJ. Drogas e gravidez. São Paulo: Manole, 1979, 210p.
- Gram L. Clinical experience with oxcarbazepine. *Epilepsia*, 1994; 35: S21-S22, 1994.
- Lloyd P, Flesh G., Dieterle W. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of oxcarbazepine. *Epilepsia*, 1994; 35: S10-S13.
- McLeand MJ, Schmutz M, Wamil AW, Olpe HR, et al. Oxcarbazepine: Mechanisms of action. *Epilepsia*, 1994; 35: S5-S9, 1994.
- Schwabe S. Clinical development outlook of oxcarbazepine. *Epilepsia*, 1994; 35: S2-S4, 1994.
- Bülau P, Paar WD, von Unruh GE. Pharmacokinetics of oxcarbazepine and 10-hydroxy-carbazepine in the newborn child of an oxcarbazepine-treated mother. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1988; 34: 311-3, 1988.
- Friis ML, Kristensen O, Boas J., Dalby M. et al. Therapeutic experiences with 947 epileptic-out patients in oxcarbazepine treatment. *Acta Neurol. Scand.*, 1988; 87: 224 - 27, 1998.
- Andermann E. Pregnancy and oxcarbazepine. *Epilepsia*, 1994; 35: S26.
- Bennett GD, Amore BM, Finnell RH, Wlodarczyk B, Kalhorn TF, Skilles GL et al. Teratogenicity of carbamazepine - 10,11-epoxide and oxcarbazepine in the SWV mice. *J. Pharmacol. Exper. Therapy*, 1996; 279: 1237 - 42.
- Gleich J., Froberg H. General teratological techniques. In: Neubert D, Merker HJ, Kwasi-groch TE. Methods in prenatal toxicology, Massachusetts, PSG Publishing Company, 1977; 94-102.
- Kato H, Morishige WK, Rotchild I. A quantitative relationship between the experimentally determined number of conceptuses and corpus luteus activity in pregnant rats. *Endocrinology*, 1979; 105: 846-50.
- Kubová H, MARES, P. Anticonvulsant action of oxcarbazepine, hydroxycarbamazepine, and carbamazepine against metrazol-induced motor seizure in developing rats. *Epilepsia*, 1993; 34: 188-92.
- Bejjamini V, Skalsz LL, Joca SRL, Andreatini R. The effect of oxcarbazepine on behavioural despair and learned helplessness. *Eur. J. of Pharmacol*, 1998; 374: 23-7.
- Manson JM, Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: Hayes AW. ed. Principles and Methods of toxicology, 3 ed. New York, Raven Press, 1994; 989-1037.
- Forcelledo ML, Vera R., Croxatto HB. Ovum transport in pregnant, pseudopregnant, and cyclic rats and its relationship to estradiol and progesterone blood levels. *Biol. Reprod*, 1981; 24: 760-5.
- Ortiz ME, Lladós C, Croxatto HB. Embryos of different ages transferred to the rat oviduct enter the uterus at different times. *Biol. Reprod*, 1989; 41: 381-4.
- Uchida K, Kadowaki M., Nomura Y, Myata K,

- Miyake T. *et al.* Relationship between ovarian progesterin secretion and corporal lutea function in pregnant rat. *Endocrinol*, 1970; 17: 499 - 507.
23. Waynforth HB. Changes in the volume of rat corpus luteum during pregnancy and after surgical interference with the uterus and placenta. *Acta Endocrinol*, 1971; 66: 296-302.
24. Inman OR, Markivee CR. Gross effects on rabbit embryos and newborns of x - irradiation in the blastocyst atage. *Anat. Rec.*, 1963; 147:139-47.
25. Ortiz ME, Villalón M, Croxatto HB. Ovum transport and fertility following post ovulatory treatment with estradiol in rats. *Biol.Reprod.*, 1979; 21: 1163-167.
26. Roblero LS, Fernandez O, Croxatto HB. The effect of RV 486 on transport, development and implantation of mouse embryos. *Contraception*, 1987;36: p.549-55.
27. Moore GD, Croxatto HB. Effects of delayed treatment with estrogen on the transport of microspheres by the rat oviduct. *J. Reprod.Fertil.*, 1988; 83: 795-802.
28. Croxatto HB, Ortiz ME, Forcelledo ML, Fuentealba B *et al.* Hormonal control of ovum transport through the rat oviduct. *Arch. Biol. Med. Exp.*, 1991; 24: 403-10.
29. Talo A. How the myosalpix works in gamete and embryo transport. *Arch. Biol. Med.Exp.*, 1991; 24: 332-43.
30. Villalon M, Verdugo P. Control of ciliary movement in mammalian oviductal ciliated cells. *Arch.Biol.Med.Exp.*, 1991; 24: 344-50.
31. Harper MJK. Gamete and zygote transport. In: Knobil E, Neill JD. The physiology of reproduction, 2ed. New York, Raven Press, 1994; 123-87.
32. Viggiano M, Cebal E, Gimeno AL, Gimeno MF. Probable influence of ova and embryo prostaglandins in the differential transport in pregnant and cycling rats. *Prostaglandins Leukot Essent. Fatty Acid.*, 1992; 45: 211-5.
33. Viggiano M, Cebal E, Gimeno AL, Gimeno MF. Influence of ova within rat oviducts on spontaneous motility and on prostaglandin production. *Prostaglandins Leukot Essent. Fatty Acid.*, 1990; 41: 13 -7 apud Harper MJK. Gamete and zygote transport. In: Knobil, E, Neill JD. The physiology of reproduction, 2ed. New York, Raven Press, 1994;123-87.
34. Forcelledo ML, Morales P, Vera R, Quijada S, Croxatto HB. Role of ovarian and adrenal progesterone in the regulation of ovum transport in pregnant rats. *Biol.Reprod.*, 1982; 27: 1033-41.
35. Forcelledo ML, Croxatto HB. Effects of 4-hydroxyandrostenedione and exogenous testosterone on blood concentration of oestradiol and oviductal embryo transport in the rat. *J. Endocrinol.*, 1988; 118: 93-100.
36. Fuentealba B, Nieto M, Croxatto HB. Progesterone abbreviates the nuclear retention of estrogen receptor in the rat oviduct and counteracts action on egg transport. *Biol.Reprod.*, 1988; 38: 63-9.
37. Vinijisamun A. Effects of monoclonal antibody against progesterone on embryo transport, development and implantation in laboratory mice. *Reprod.Fertil.Develop.*, 1990; 2: 395-405.

Artigo recebido: 26/11/99
 Aceito para publicação: 18/04/00
