

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LIDIA MARIA MELO

**EFEITO DA SUBSTÂNCIA PSICODÉLICA 25H-NBOME SOBRE O
COMPORTAMENTO MATERNO E POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS PARA A
PROLE**

Alfenas/ MG

2023

LIDIA MARIA MELO

**EFEITO DA SUBSTÂNCIA PSICODÉLICA 25H-NBOME SOBRE O
COMPORTAMENTO MATERNO E POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS PARA A
PROLE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fisiologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva
Coorientadora: Prof.^a Dr^a Fabiana Cardoso Vilela Giusti

Alfenas/ MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Melo, Lídia Maria.

Efeito da substância psicodélica 25H-NBOMe sobre o comportamento materno e possíveis consequências para a prole / Lídia Maria Melo. - Alfenas, MG, 2023.

67 f. : il. -

Orientador(a): Alexandre Giusti-Paiva.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Cuidado Materno. 2. Psicodélico. 3. Receptor 5-HT. 4. Lactação. 5. Filhotes. I. Giusti-Paiva, Alexandre, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

LIDIA MARIA MELO

**EFEITO DA SUBSTÂNCIA PSICODÉLICA 25H-NBOME SOBRE O
COMPORTAMENTO MATERNO E POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS PARA A
PROLE**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pelo Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Alfenas-MG.

Área de concentração: Ciências Fisiológicas.

Aprovada em: 31/10/2023

Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva

Presidente da Banca Examinadora

Instuição: Universidade Federal de Alfenas UNIFAL - MG



Documento assinado digitalmente

ALEXANDRE GIUSTI PAIVA

Data: 01/11/2023 13:50:35-0300

CPF: ***.475.778-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Heloisa Helena Vilela Costa

Instuição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

Prof. Dr. Tayllon dos Anjos Garcia

Instuição: Universidade Federal de Alfenas UNIFAL - MG

Dedico essa etapa da minha vida à Deus, ao meu marido Fagner, minha filha Luíza e aos meus pais e irmãos Luiz, Cláudia, Carolina e Juliana. Obrigada por serem sempre meu maior incentivo! Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me fortalecido ao longo desta caminhada e que foi o meu alicerce nos momentos de dificuldade.

Agradeço ao meu marido, Fagner Luiz, por todo incentivo, companheirismo, amor, paciência, positividade e por compreender minha distância em alguns momentos dessa trajetória.

Agradeço a minha família, em especial, minha mãe Cláudia e meu pai Luiz, que nunca mediram esforços para tornar meus sonhos em realidade; e minhas irmãs Juliana e Ana Carolina pelo incentivo de sempre!

Agradeço aos meus orientadores Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva e a Prof^a Dr^a Fabiana Cardoso Vilela Giusti, pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa, pela confiança, amizade e grande contribuição para o meu crescimento profissional.

Agradeço aos profissionais do laboratório, o José (Zé) e a Rose, pela amizade e por me ajudarem com as inúmeras limpezas das caixas. Aos professores visitantes por toda a ajuda e orientação ao longo destes quase dois anos de convivência.

Agradeço as amigas que foram construídas neste período: Letícia, Renata, Flávia, Thaís, Priscila, Eduardo, Lucinda e Sandra. Obrigada pelos vários momentos que amenizaram a saudade de casa!

Ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Alfenas, pela possibilidade de execução deste trabalho.

E finalmente, com eterna gratidão e respeito, agradeço aqueles que deram sua vida em prol da realização deste trabalho: as mães roedores e seus filhotes.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**“ É justo que muito custe o que muito vale”
Santa Teresa D’Avila**

RESUMO

O Comportamento Materno (CM) garante a sobrevivência da espécie. Estudos demonstraram que o uso de drogas pode alterar a relação mãe-filhote e, conseqüentemente, o desenvolvimento da prole. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar se a administração da substância 25H-NBOMe (agonista do receptor serotoninérgico) teria efeito sobre o CM e conseqüências para a prole. As fêmeas foram tratadas com doses diferentes de 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0mg/kg). A substância foi aplicada nas fêmeas lactantes no 5º dia pós-parto (D5) e nas fêmeas não lactantes, na fase de diestro. Para avaliar a atividade psicodélica da droga foram realizados teste de HTR e Campo Aberto. Nas fêmeas lactantes, os testes para avaliação psicodélica foram realizados no D5 em conjunto com avaliação do CM, denominado motivado (CMM). Ao longo do período de lactação foi avaliado o CM, denominado contínuo (CMC). A mensuração do ganho de peso das fêmeas lactantes ocorreu desde o dia do acasalamento até o desmame. Na prole, o registro ocorreu a partir do 2º ao 32º dia pós-parto. Com a ninhada das fêmeas lactantes foram realizados os testes de Comportamento de Brincar e Interação Social. Os dados foram avaliados através do programa GraphPad Prism versão 8.0. Assim, nossos resultados sugerem que o efeito de 25H-NBOMe no CMC, apesar de alterar alguns parâmetros, não há diferença estatística entre os grupos tratamento e controle. Em contrapartida, no CMM constatamos alteração nos parâmetros de recuperação dos filhotes e aumento da latência. Não houve diferença entre os grupos na avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes e da ninhada. Tanto as fêmeas lactantes quanto as não lactantes fazem movimentos de contração da cabeça, mas não há alteração no teste de campo aberto. Por fim, nos testes comportamentais da ninhada, há alteração em alguns parâmetros do comportamento de brincar, mas não na interação social da prole. Logo, concluímos que a substância 25H-NBOMe tem efeito no CMM e no comportamento de brincar da prole.

Palavras-chave: Cuidado Materno, Psicodélico, Receptor 5-HT, Lactação, Filhotes.

ABSTRACT

Maternal Behavior (MB) ensures the survival of the species. Studies have shown that drug use can alter the mother-infant relationship and, consequently, the development of the offspring. Given this, the present study aimed to evaluate whether the administration of the substance 25H-NBOMe (serotonergic receptor agonist) would affect the MC and the consequences for the offspring. Females were treated with different doses of 25H-NBOMe (0.3mg/kg and 1.0mg/kg). The substance was applied to lactating females on the fifth postpartum day (D5) and non-lactating females during the diestrus phase. HTR and Open Field tests were performed to evaluate the drug's psychedelic activity. In lactating females, the tests for psychedelic evaluation were performed on D5 together with the evaluation of the MB, called motivated (MMB). Throughout the lactation period, the MB was evaluated, called continuous (CMB). The measurement of the weight gain of lactating females occurred from the day of mating until weaning. In the offspring, the registration occurred from the 2nd to the 32nd postpartum day. With the litter of lactating females, tests of Playing Behavior and Social Interaction were performed. Data were evaluated using the Graph Pad Prism version 8.0 program. Thus, our results suggest that the effect of 25H-NBOMe on CMB, despite changing some parameters, there is no statistical difference between treatment and control groups. On the other hand, in the MMB, we found changes in the parameters of the recovery of the pups and an increase in latency. There was no difference between the groups in the weight gain assessment of lactating females and litter. Both lactating and non-lactating females make twitching movements of the head, but there is no change in the open field test. Finally, in the litter's behavioral tests, there is a change in some parameters of playing behavior but not in the social interaction of the offspring. Therefore, we conclude that the substance 25H-NBOMe affects the CMB and the playing behavior of the offspring.

Keywords: Maternal Care, Hallucinogenic, 5-HT Receptor, Lactation, Puppies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de alguns parâmetros analisados no comportamento materno em fêmeas lactantes.	17
Figura 2 - Representação esquemática das principais regiões neurais e conexões que constituem a rede neural materna.	20
Figura 3 - Estrutura química do psicodélico sintético n-(2-metoxibenzil)-2,5-di-metoxifenetilamina (NBOMe).	24
Figura 4 - Imagens dos principais selos encontrados entre usuários da droga psicodélica NBOMe.	25
Figura 5 - Representação do protocolo da avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes e suas ninhadas	36
Figura 6 - Representação do protocolo da avaliação do comportamento materno em ratas lactantes.	37
Figura 7 - Representação do protocolo da avaliação da atividade psicodélica em ratas lactantes	38
Figura 8 - Representação do protocolo da avaliação da atividade psicodélica em ratas não lactantes	38
Figura 9 - Representação do protocolo da avaliação do comportamento da prole	39
Figura 10 - Efeito do tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0 mg/kg) no comportamento materno contínuo em fêmeas ao longo da lactação.	41
Figura 11 - Efeito do tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0 mg/kg) no comportamento materno motivado em fêmeas no quinto dia de lactação.	43
Figura 12 - Avaliação do ganho de peso das fêmeas e suas ninhadas.	44
Figura 13 - Efeito do tratamento com 25H-NBOMe sobre a frequência dos movimentos HTR	46
Figura 14 - Efeito do tratamento com 25H-NBOMe sobre a capacidade locomotora e exploratória das fêmeas lactantes	47
Figura 15 - Efeito do tratamento com 25H-NBOMe sobre a capacidade locomotora e exploratória das fêmeas não lactantes	48
Figura 16 - Avaliação do comportamento dos filhotes no teste de comportamento de brincar	49

Figura 17 - Avaliação do comportamento dos filhotes machos no teste de interação social	50
Figura 18 - Avaliação do comportamento dos filhotes fêmeas no teste de interação social	51

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Grupos experimentais	30
---------------------------------------	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	CUIDADO MATERNO E CONSEQUÊNCIAS PARA A PROLE	15
1.1.1	Comportamento materno.....	15
1.1.2	Interferência do cuidado materno na prole adulta	17
1.2	MECANISMOS NEURAIS RELACIONADOS AO COMPORTAMENTO MATERNO	18
1.2.1	Estrutura Neurobiológica para Cuidados Maternos	19
1.2.2	Regulação hormonal para o comportamento materno	21
1.3	INFLUÊNCIA DE DROGAS PSICODÉLICAS NO PÓS-PARTO	23
2	OBJETIVOS	27
2.1	OBJETIVO GERAL	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	ANIMAIS	28
3.2	SUBSTÂNCIAS	28
3.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	28
3.3.1	Acasalamento	28
3.3.2	Padronização da ninhada	29
3.3.3	Fêmeas não prenhes	29
3.3.4	Tratamento com 25H-NBOMe	29
3.3.5	Pesagem das fêmeas lactantes e suas ninhadas	30
3.3.6	Análises estatísticas	31
3.4	TESTES COMPORTAMENTAIS	31
3.4.1	Comportamento materno.....	31
3.4.1.1	Comportamento Materno Contínuo	31
3.4.1.2	Comportamento Materno Motivado	32
3.4.2	Atividade psicodélica.....	32
3.4.2.1	Resposta de Contração da Cabeça (HTR).....	33
3.4.2.2	Campo Aberto	33
3.4.3	Comportamento dos filhotes.....	34

3.4.3.1	Teste de Comportamento de Brincar.....	34
3.4.3.2	Teste de Interação Social em Aparato de Três Câmaras.....	35
4	DELINEAMENTO EXPERIEMANTAL.....	36
4.1	PROTOCOLO 1: Avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes e suas ninhadas.....	36
4.2	PROTOCOLO 2: Avaliação de comportamento materno em ratas lactantes.....	37
4.3	PROTOCOLO 3: Avaliação da atividade psicodélica.....	37
4.4	PROTOCOLO 4: Avaliação do comportamento da prole.....	38
5	RESULTADOS.....	40
5.1	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO.....	40
5.1.1	Comportamento Materno Contínuo (CMC).....	40
5.1.2	Comportamento Materno Motivado (CMM).....	42
5.2	AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO DAS MÃES E DA NINHADA.....	43
5.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALUCINÓGENA.....	45
5.3.1	Efeito do teste de HTR.....	45
5.3.2	Efeito do teste de Campo Aberto.....	46
5.4	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DOS FILHOTES.....	48
5.4.1	Comportamento de brincar.....	48
5.4.2	Interação Social.....	50
6	DISCUSSÃO.....	52
6.1	EFEITO DO TRATAMENTO DE 25H-NBOME, EM DOSE ÚNICA, NO QUINTO DIA DE LACTAÇÃO, NO COMPORTAMENTO MATERNO E NO GANHO DE PESO DAS FÊMEAS E DA PROLE.....	53
6.2	AVALIANDO ATIVIDADE PSICODÉLICA DA SUBSTÂNCIA 25H-NBOME.....	54
6.3	CONSEQUÊNCIAS PARA A PROLE DE FÊMEAS QUE FORAM TRATADAS COM 25H-NBOME EM DOSE ÚNICA, NO QUINTO DIA DE LACTAÇÃO.....	56

7	CONCLUSÃO	58
	REFERÊNCIAS	59
	ANEXO.....	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 CUIDADO MATERNO E CONSEQUÊNCIAS PARA A PROLE

1.1.1 Comportamento materno

Filhotes de mamíferos dependem da mãe para variados comportamentos de cuidado. Em algumas espécies, como os roedores, tais cuidados são particularmente extensos, envolvendo não só a munção das necessidades nutricionais e de hidratação, mas também a manutenção da temperatura corporal e estimulação sensorial. A mãe constrói um ninho no qual dá a luz e abriga a ninhada de filhotes, que ainda não estão totalmente desenvolvidos e limitados em capacidades e locomoção (BIRKE; SADLER, 1987; MANDUCA *et al.*, 2012; LEVY, 2016).

Atividades típicas da espécie que a mãe realiza para garantir a sobrevivência e aperfeiçoar o desenvolvimento da prole são definidas como Comportamento Materno (CM) (ZIMMERBERG; GRAY, 1992). Esse comportamento aparece na mãe espontaneamente no peri parto e após o nascimento da sua prole. O CM em ratos é um comportamento social altamente organizado e motivado. A exibição de todo repertório do CM dura por volta de duas a três semanas pós-parto. Contudo, à medida que os filhotes amadurecem há mudanças de intensidade e qualidade no comportamento da mãe (LI, 2015).

O cérebro materno sofre notáveis mudanças fisiológicas e comportamentais no período peri parto que visam o cuidado da prole, e diversos hormônios, neuropeptídeos e neurotransmissores (estrogênio, progesterona, prolactina, ocitocina, opióides endógenos, dopamina e serotonina) desempenham papéis importantes na indução e regulação do comportamento materno em animais e humanos (MANDUCA *et al.*, 2012). Frente a essas mudanças hormonais, em ratas primíparas, a resposta ao estímulo dos filhotes é imediata (NUMAN, 2007).

Em contrapartida, em fêmeas virgens a responsividade materna frente a filhotes (adotivos) não é imediata, pós-exposição, como em parturientes. Essas ratas nulíparas podem expressar CM quando estimuladas e sensibilizadas por filhotes após latência de alguns dias. Assim, é possível compreender que o CM não é exclusivo de eventos endócrinos, mas que estes agem para diminuir a latência no CM após exposição aos filhotes, facilitando a responsividade materna em ratas parturientes e

possibilitando a continuação do comportamento no período de lactação sem ação hormonal direta (NUMAN, 1994; FRANCIS *et al.*, 1999; SHEEHAN *et al.*, 2000; CHAMPAGNE *et al.*, 2001).

Cuidados de enfermagem, construção do ninho, recuperação e lambedura anogenital fazem parte de estímulos não hormonais que ajudam a refinar o CM. A estimulação vagino-cervical durante o parto reforça as mudanças em resposta aos filhotes (ROSENBLATT, 1989).

Nota-se que o CM é mantido por estímulos táteis, olfativos, térmicos e gustativos (BIRKE; SADLER, 1987; ZIMMERBERG; GRAY, 1992). Esta fase induz a um grau máximo de pistas sensoriais que emanam dos filhotes, o que posteriormente mantém a responsividade materna (LEVY, 2016).

Entre as mudanças comportamentais maternas direcionadas a prole no pós-parto imediato, está a liberação dos mesmos da membrana fetal, que estimula a respiração e permite a movimentação dos membros; e a lambedura dos filhotes, geralmente na região anogenital, permitindo a micção e defecação do filhote. A fêmea ainda tem o comportamento de recuperação dos filhotes de volta ao ninho e após todos estarem reunidos no ninho, a fêmea faz a postura de amamentação, sendo este o CM mais característico dos roedores. (ZIMMERBERG; GRAY, 1992; CAPONE *et al.*, 2005).

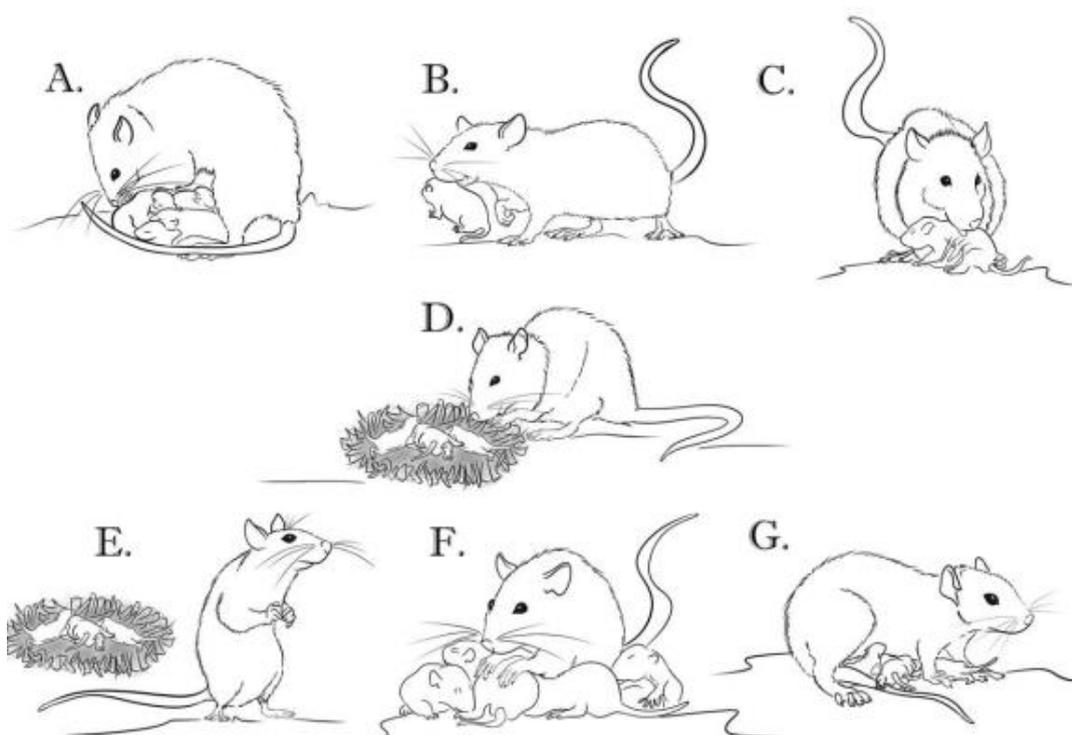
No comportamento de amamentação a postura de agachamento é ativa, também denominada de cifose. Nesta postura, predominante na primeira semana pós-parto, a fêmea faz um arco dorsal pronunciado e afasta as pernas para possibilitar o alcance de todos ou da maioria dos filhotes. Conforme os dias passam e os filhotes dominam o ato de amamentar, a fêmea adota a postura passiva, deitando-se de lado enquanto os filhotes mamam (PEDERSEN; PRANGE, 1979; CALDJI *et al.*, 1998; STERN; JOHNSON, 1990; PEDERSEN; BOCCIA, 2003; CAPONE *et al.*, 2005; BOSCH; NEUMANN, 2012).

Nos CM direcionados ao ambiente, as fêmeas se concentraram em partes físicas do local para a construção e manutenção do ninho e mantem-se atentas à presença de invasores, com o intuito de proteger a prole (ZIMMERBERG; GRAY, 1992). No entanto, nos CM autodirigidas, as lactantes realizam a autolimpeza, ao qual se lambem (principalmente os mamilos), se penteiam ou se arranham em qualquer parte de seu corpo. Algumas vezes esse comportamento é observado

simultaneamente com a lambida dos filhotes, que possibilita a ingestão de urina dos filhotes, contribuindo significativamente para o aumento das necessidades de água da própria mãe à medida que a lactação avança. (CAPONE *et al.*, 2005).

Na figura 1 são apresentados alguns dos parâmetros maternos exibidos pelas fêmeas lactantes.

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



Fonte: Adaptação de VERONESI, 2016.

Nota: Posição de cifose (A), carregando filhote (B), lambendo filhote (C), construindo ninho (D), fora do ninho (E), agrupando os filhotes (F), sobre os filhotes (G).

1.1.2 Interferência do cuidado materno na prole adulta

A capacidade dos pais de criar a prole até atingir a maturidade garante o sucesso reprodutivo de uma espécie. O cuidado materno influencia o curso do desenvolvimento físico e psicológico da prole, sendo importante também, em muitas espécies, para a socialização da mesma. A amamentação é o comportamento mais característico observável em mamíferos (CAPONE *et al.*, 2005; MANDUCA *et al.*, 2012). Uma nutrição bem-sucedida requer a coordenação de vários subcomponentes do CM (PEREZ *et al.*, 2014).

A reciprocidade entre os comportamentos maternos e a manifestação de sinais dos recém-nascidos promove a maturação física, a resiliência imunológica, fisiológica e o desenvolvimento social, emocional e cognitivo típico da espécie dos filhotes (MANDUCA *et al.*, 2012).

Alterações ambientais no período pós-natal podem gerar efeitos na fisiologia e no comportamento de um indivíduo e influenciar a predisposição para problemas de saúde na vida adulta (LAUBY *et al.*, 2021; CHAGAS *et al.*, 2021). Li (2016), Czarzasta (2019) e seus colaboradores mostraram que, em humanos, os filhos de mães estressadas desenvolviam fenótipo ansioso e apresentavam atrasos no neurodesenvolvimento, no crescimento e alterações comportamentais e cardíacas.

Muitos estudos psicossociais revelam que distúrbios maternos pós-parto desencadeiam consequências adversas sobre o desenvolvimento cognitivo infantil, incluindo déficits na aprendizagem, atenção e linguagem. A interação mãe-bebê é apontada como o principal mediador, ao qual, qualquer estresse nesta interação pode causar mudanças neurofisiológicas e comportamento alterado da prole (PITTET *et al.*, 2019).

Há consenso em estudos que relacionam o uso de drogas recreativas, como a cannabis, durante a lactação, quanto às consequências para a prole, que podendo desencadear déficits cognitivos, visuais e motor, se estendendo na vida adulta (LO *et al.*, 2022; PAUL *et al.*, 2021; RYAN *et al.*, 2018; ASTLEY *et al.*, 1990). Em nosso laboratório, Costa e colaboradores (2013) evidenciaram que o CM diminuiu quando ratas lactantes recebem o agonista de receptor canabinóide (CB1), repercutindo em respostas de medo na fase adulta da prole.

1.2 MECANISMOS NEURAIS RELACIONADOS AO COMPORTAMENTO MATERNO

A estrutura comportamental da fêmea predispõe a resposta materna desenvolvida por ela. Dado a condição das respostas comportamentais das mais variadas espécies de mamíferos, torna-se desafiadora a comparação dos pressupostos mecanismos neuroendócrinos com os reguladores biológicos entre as espécies. Como por exemplo, para roedores, cães e gatos a recuperação é um comportamento comum, para ovelhas, o balido materno e a imediação ao filhote são características maternas. Para primatas não humanos, carregar os filhotes e estar

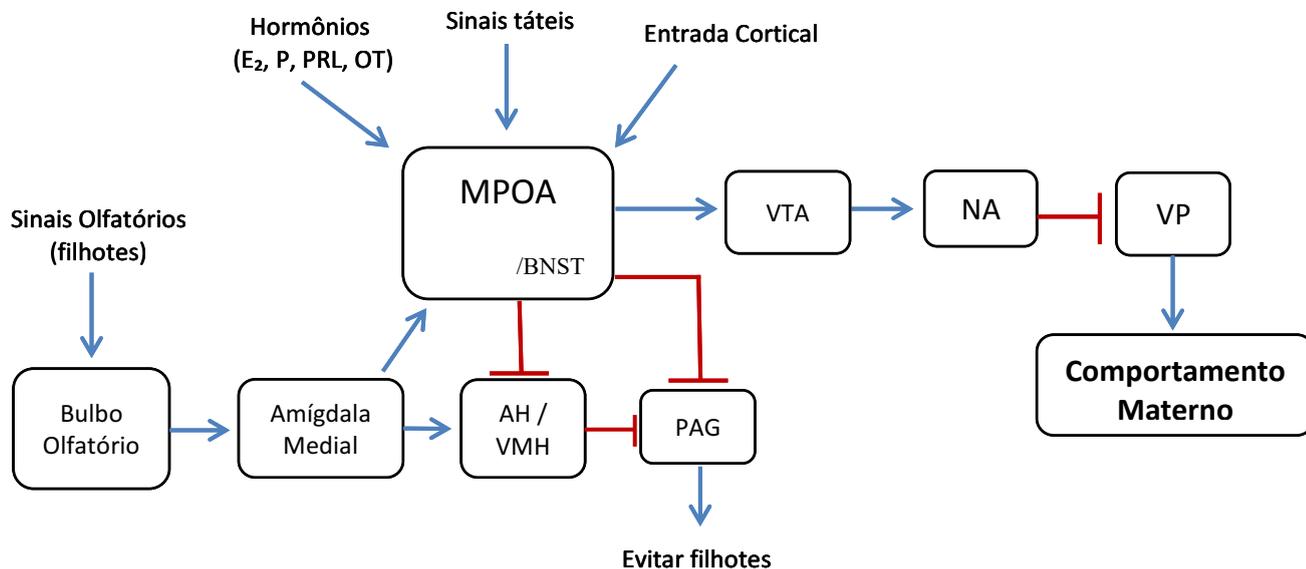
próximo ao mesmo são respostas importantes do cuidado materno. Já em humanos, o contato visual “face-a-face” com o bebê, avaliação de apego, estado de humor e reconhecimento olfativo são os pontos fortes para medir o estado materno (BRIDGES, 2015).

1.2.1 Estrutura Neurobiológica para Cuidados Maternos

As regiões do cérebro que regulam o CM, direcionado ao filhote, se sobrepõem consideravelmente às subjacentes a outras formas de vínculo social. Estudos com roedores e humanos apontam para uma rede de circuitos conservados (hipotálamo – mesencéfalo – límbico – paralímbico - corticais) que interagem para dar suporte a aspectos específicos da resposta materna aos filhotes. Assim, os estímulos dos filhotes ativam as regiões basais do cérebro. Este regula os circuitos que lidam com respostas específicas de nutrição e cuidado e ativam outros circuitos neurais mais gerais para lidar com emoções, motivação e atenção, todos decisivos para uma maternidade eficaz (MANDUCA *et al.*, 2012).

Uma representação esquemática de uma rede neural envolvida na regulação do comportamento materno é ilustrada na Figura 2, a seguir:

Figura 2 - Representação esquemática das principais regiões neurais e conexões que constituem a rede neural materna.



Fonte: Adaptação de BRIDGES, 2015.

Nota: Todas as setas azuis são estimuladoras e os traços vermelhos são inibitórios. Hormônios: estrógeno (E₂), progesterona (P), prolactina (PRL) e ocitocina (OT). Regiões cerebrais: hipotálamo anterior (AH); núcleo do leito da estria terminal (BNST); área pré-óptica medial (MPOA); núcleo accumbens (NA); substância cinzenta periaquedutal (PAG); hipotálamo ventromedial (VMH); pálido ventral (VP); área tegmental ventral (VTA).

Sinais olfativos, oriundo dos filhotes, fazem com que a amígdala projete eferências para áreas hipotalâmicas, como área pré óptica medial (MPOA), hipotálamo anterior (AH) e núcleo do leito da estria terminal (BNST). Supõe-se que os sinais inibitórios da amígdala sejam abrandados no parto para que haja a estimulação do cuidado materno, que é acionado através desses locais hipotalâmicos-chave. As projeções dopaminérgicas mesolímbicas que chegam nos centros de recompensa, incluindo o núcleo accumbens (NA), são eferências do MPOA para a área tegmental ventral (VTA). Para amortizar o comportamento de evitação ao filhote e aumentar a chance da mãe encantar-se com o recém-nascido, as projeções eferentes que saem do hipotálamo (AH/VMH e MPOA/BNST) para a substância cinzenta periaquedutal (PAG) são deprimidas, além da inibição da projeção do NA para pálido ventral (PV) para que o comportamento materno venha a ocorrer. Assim, pistas sensoriais, entradas corticais, diversos hormônios e neuroquímicos afluem nessa rede neural para articular o comportamento materno, sendo uma rede que pode alterar seu

sincronismo através de processos de desenvolvimento e experiência materna (BRIDGES, 2015).

1.2.2 Regulação hormonal para o comportamento materno

A indução de alterações fisiológicas em várias áreas cerebrais ocorre no parto (LEVY, 2016). Algumas regiões do cérebro, como o núcleo do leito da estria terminal, área pré-óptica medial e a amígdala são cruciais para a expressão do comportamento materno em ratos, ao qual um dano nessas regiões atrapalha o CM e a estimulação facilita a responsividade materna (LIN *et al.*, 2003).

Os ovários secretam hormônios (estrogênio e progesterona) sob a regulação da glândula pituitária anterior desempenhando um papel importante na regulação materna da gravidez (SIEGEL, 1986). Ao final da gestação, o parto abrange uma série de mudanças inter-relacionadas nas secreções endócrinas da mãe e do feto para iniciar e acelerar o próprio processo de parição. As mudanças na secreção ovariana de estrogênio e progesterona, a secreção pituitária de prolactina e a secreção de ocitocina pelos núcleos paraventricular e supraóptico do cérebro são de peculiar importância (ROSENBLATT, 1989; LEVY, 2016).

Uma boa relação entre os hormônios esteroides, estrógeno e progesterona, próximo ao momento do parto, exerce um papel importante na indução hormonal do CM. O estrógeno é essencial para estimular o cuidado materno. A exposição prolongada à progesterona prepara a fêmea para responder ao aumento de estrógeno no final da gestação e no parto, e, o decaimento da secreção de progesterona no final da gravidez, concilia o início do CM com o parto. A construção do ninho também está sob controle de altos níveis de progesterona e baixos níveis de estrógeno. O efeito de priming (pré-ativação) dos hormônios esteroides permite que outras fontes desencadeiam o CM. Tais fontes abrangem hormônios como prolactina e ocitocina e a estimulação somatossensorial associada ao parto (LEVY, 2016).

O desequilíbrio dos hormônios esteroides causa um aumento da prolactina horas antes do parto, mantendo o nível elevado após o parto devido à estimulação mamária. Sintetizado e liberado pela glândula pituitária anterior, a prolactina tem fácil acesso ao circuito neural. Sua presença aumenta os níveis de CM, facilitando também o comportamento de recuperação e amamentação. A função da prolactina é confirmada por estudos com animais knockout para receptores de prolactina, aos

quais fêmeas nulíparas mutantes e fêmeas primíparas exibiram um grande déficit nos comportamentos de recuperação e amamentação (LIN *et al.*, 2003; LEVY, 2016).

O aumento da ocitocina plasmática é estritamente presente com a fase real de expulsão. A estimulação vagino-cervical (estímulo sensorial) pelo filhote inicia a resposta materna abrangendo principalmente a liberação de ocitocina no cérebro. Liberada no núcleo paraventricular (principal fonte de projeções ocitocinérgicas do hipotálamo), no núcleo supraóptico e nos terminais ocitocinérgicos dentro dos bulbos olfatórios, a ocitocina tem a função de estimular contrações uterinas vigorosas (momento do parto) e provocar a descida do leite (na lactação) (ROSENBLATT, 1989; LIN *et al.*, 2003; LEVY, 2016).

Conforme mencionado, várias áreas do cérebro são importantes para o CM, sendo todos diretamente inervados por aferentes serotoninérgicos que surgem nos núcleos da rafe do mesencéfalo. No CM, o papel da serotonina está associado em influenciar o aumento da secreção de prolactina. Porém, alguns estudos associam a redução da concentração de serotonina com reduções na taxa de crescimento dos filhotes, no CM de recuperação dos filhotes e até mesmo na morte dos mesmos (PEREZ *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2014; GAO *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2018; REZAEI *et al.*, 2021).

O CM tem sido validado como um modelo útil para pesquisas de efeitos comportamentais complexos e mecanismos neurobiológicos de drogas psicoativas em um domínio social. Sendo os receptores de serotonina (5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}) indispensáveis para a expressão normal do desempenho materno (LI, 2015).

O comportamento materno refere-se a um conjunto complexo de comportamentos adaptativos e respostas fisiológicas exibidos por uma mãe após o parto e é crucial para o cuidado adequado, nutrição e bem-estar geral da prole (VILELA; GIUSTI-PAIVA, 2011; 2014). O início e a regulação desses comportamentos são influenciados por uma combinação de mudanças hormonais durante e após a gravidez, estímulos sensoriais da prole e fatores ambientais. Além disso, interrupções ou anormalidades no comportamento materno podem ter implicações profundas no desenvolvimento físico, emocional e social da prole. O comportamento materno está ligado ao receptor de serotonina 5-HT_{2A}, encontrado abundantemente no sistema nervoso central (PAMPEIANO *et al.*, 1994). Além de seu vasto papel em diversas funções psicológicas, este receptor está localizado em regiões cerebrais essenciais

para a expressão do comportamento materno. A ligação com o receptor 5-HT_{2A} começou a ser melhor estudada após a investigação da base neuroquímica dos efeitos disruptivos induzidos por antipsicóticos no comportamento materno em ratos. Para antipsicóticos típicos, geralmente se assume que eles interrompem o comportamento materno ao bloquear os receptores de dopamina D₂, já que são principalmente antagonistas deste receptor (ZHAO; LI, 2009). Isso se deve, em parte, ao fato de que a apomorfina, um agonista do receptor de dopamina, pode reverter os efeitos inibitórios do haloperidol. No entanto, antipsicóticos atípicos como clozapina, risperidona e quetiapina interrompem o comportamento materno (LI *et al.*, 2004; ZHAO; LI, 2009). Porém, como geralmente possuem múltiplos perfis de ligação ao receptor, é difícil identificar seus mecanismos neuroquímicos exatos, mas podem estar envolvidos em ações duais nos receptores 5-HT₂ e D₂ (LI *et al.*, 2004). O 2,5-dimetoxi-4-iodo-anfetamina (DOI), uma substância da classe das fenetilaminas, um seletivo 5-HT_{2A/2C}, frequentemente utilizado para investigar o sistema de serotonina no cérebro (MARGHATO *et al.*, 2007), foi usado para antagonizar o bloqueio da clozapina nos receptores 5-HT_{2A/2C} (LI *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2012; FENG *et al.*, 2015), incluindo no comportamento materno (ZHAO; LI, 2009).

Chen e colaboradores (2014) demonstraram que o agonista do receptor 5-HT_{2C} (MK212) teve um efeito suspenso no CM de recuperação, lambida e amamentação dos filhotes, e, na construção do ninho, em oposição ao baixo efeito sobre o CM com o antagonista do receptor 5-HT_{2A}, sugerindo que os receptores serotoninérgicos 2C desempenham uma função importante na regulação do CM.

Estudos demonstraram que o CM pode sofrer influência de diversos fatores como o estresse, dieta, alterações morfológicas e neuroquímicas do SNC da prole e o uso drogas (incluindo alucinógenos), aos quais culminam na alteração dos padrões normais da relação mãe-filhote e conseqüentemente no comportamento futuro dos filhotes (BATISTA *et al.*, 2019; BATISTA *et al.*, 2020; BELLUSCIO *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2013; CONNOR *et al.*, 2012; MORGANE *et al.*, 1993).

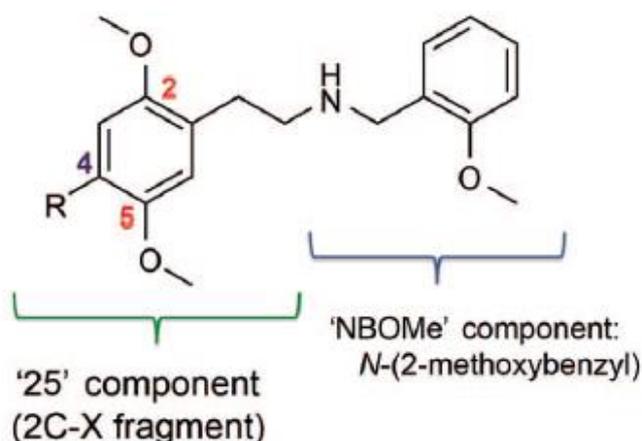
1.3 INFLUÊNCIA DE DROGAS PSICODÉLICAS NO PÓS-PARTO

As drogas psicodélicas, também conhecidas como alucinógenas, têm sido usadas por humanos há milhares de anos por levarem a estados de misticismo e embriaguez. São uma classe de fármacos que aumentam a intensidade e instabilidade

de respostas afetivas e causam distorções profundas de processos perceptivos nas modalidades visuais, auditivas e táteis. O uso desses compostos permaneceu estável por décadas, mas está se tornando vastamente disponível com o aumento do acesso a produtos naturais psicoativos e de conhecimento sobre preparações advindas da internet (HALBERSTADT; GEYER, 2013). Através da sua estrutura química, os psicodélicos podem ser divididos em duas categorias: as fenetilaminas e as triptaminas; e em uma subclasse de ergolinas, semelhantes ao dietilamida de ácido lisérgico (LSD) (HERIAN *et al.*, 2021).

Apesar de psicodélicos serotoninérgicos clássicos não serem reconhecidos como tóxicos ou fatais, uma nova classe de fenetilaminas, com propriedades tóxicas, tornou-se popular, introduzida como drogas recreativas (NICHOLS, 2016). Desde 2010, o psicodélico sintético N-(2-metoxibenzil)-2,5-di-metoxifenetilamina (NBOMe), figura 3, está presente no mercado de drogas e tem sido usado como substituto do LSD (HERIAN *et al.*, 2021).

Figura 3 - Estrutura química do psicodélico sintético N-(2-metoxibenzil)-2,5-di-metoxifenetilamina (NBOMe).

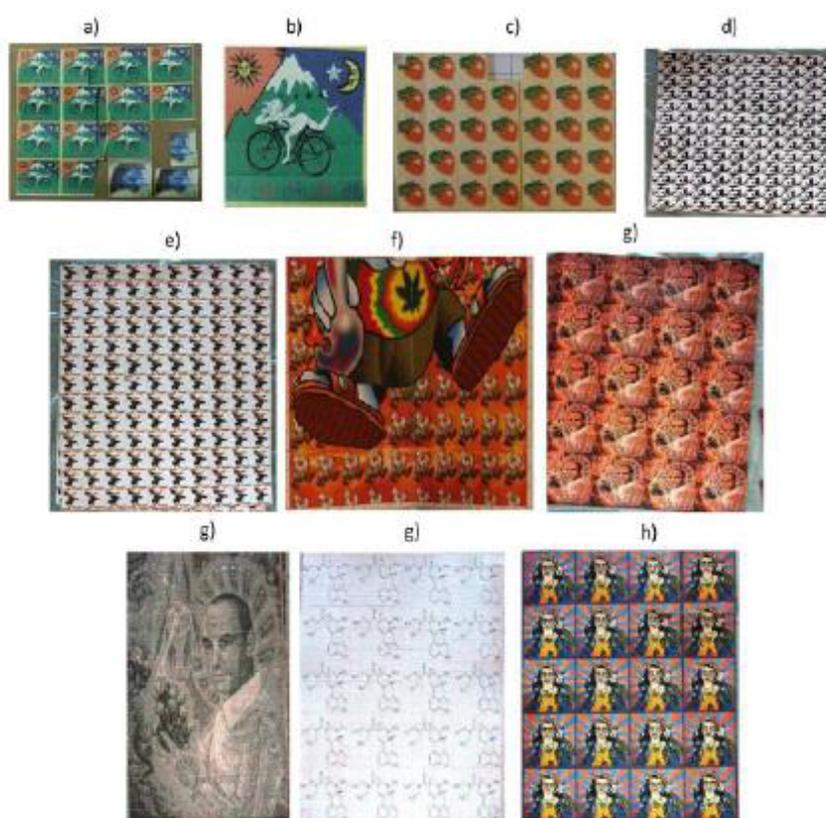


Fonte: WOOD *et al.*, 2015.

O NBOMe vem sendo vendido como LSD, não só pelos seus efeitos psicológicos e somáticos semelhantes, mas também pela sua potência em pequenas doses. O NBOMe é geralmente vendido em papel mata-borrão (pequenos pedaços de papel infundido com a substância, figura 4). Porém, o disfarce dessa substância como LSD tem efeito preocupante. As reações adversas do LSD estão bem estabelecidas por não serem fatais e seus efeitos serem de fácil reversão, deixando

seus usuários tranquilos quanto ao uso. Todavia, as consequências do uso de NBOMe não tem se apresentado muito satisfatórias, com efeitos adversos graves, podendo serem fatais com uma única dose. Assim, em 2013, a Agência de Repressão às Drogas, nos Estados Unidos, tornou todos os três análogos do NBOMe (25I, 25B, 25C) ilegais a fabricação, distribuição, importação/exportação ou posse desses compostos. Nove outros países também promulgaram leis para controlar essas substâncias, incluindo Austrália, Brasil, Dinamarca, Israel, Letônia, Rússia, Eslovênia, Suécia e Reino Unido. (ZUBA *et al.*, 2013; LAWN *et al.*, 2014; SUZUKI *et al.*, 2015; WOOD *et al.*, 2015; POKLISN *et al.*, 2015; MORINI *et al.*, 2017; SHAFI *et al.*, 2020; BARROS *et al.*, 2021).

Figura 4 - Imagens dos principais selos encontrados entre usuários da droga psicodélica NBOMe.



Fonte: WAYHS *et al.*, 2016.

Legenda: bicicleta e avator (a); bicicleta (b); moranguinho (c); gato felix (d); pato (e); coelho (f); hofmann (g); mulher de óculos (h).

Os NBOMes são agonistas ultrapotentes e altamente eficazes do receptor serotoninérgico (5-HT_{2A}), sendo esses receptores expressos em áreas cerebrais como: neocórtex, tálamo, locus coeruleus e área tegmental ventral. Usuários de

NBOMe relataram efeitos dependentes da dose em curto prazo como alteração da mente, do estado de consciência, na percepção de tempo e espaço, no alcance emocional individual, na auto percepção e na profunda alteração na percepção visual, auditiva, tátil e olfativa. (NICHOLS, 2016; TIRRI *et al.*, 2022).

Modelos comportamentais em animais é a principal metodologia utilizada para caracterizar a farmacologia dos psicodélicos *in vivo*, pois há muita dificuldade em associar os estudos aos seres humanos. Os estudos em animais forneceram as primeiras evidências de que o receptor de 5-HT 2A é responsável por mediar os efeitos comportamentais dos psicodélicos (HALBERSTADT; GEYER, 2018).

Herian e colaboradores (2021) investigaram o efeito do tratamento com NBOMe (25I-NBOMe) na dose de 0,3 mg/kg durante sete dias na liberação de neurotransmissores e para o comportamento dos ratos na dose única de 0,3 mg/kg. Obtiveram dentre seus resultados, o aumento da ativação da via da serotonina na administração repetida e a diminuição na dose única. Nos testes comportamentais houve redução da atividade motora e deficiência de memória. Concluindo assim, que a droga NBOMe causa atividade alucinógena e as interações nas vias dos neurotransmissores causam efeito na memória, locomoção e ansiedade.

Conforme exposto, são diversos os trabalhos que demonstram a importância em compreender a dinâmica do CM tanto para a mãe quanto para os filhotes e, também, conhecer os efeitos da substância psicodélica, presente recentemente no mercado de drogas, NBOMe. Contudo, não há estudos que associe os efeitos do psicodélico durante o comportamento materno. Assim, hipotetizamos que o tratamento com a substância psicodélica 25H-NBOMe durante o período de lactação possa alterar o comportamento materno das fêmeas frente sua ninhada e, conseqüentemente, ter efeito para a prole.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem os seguintes objetivos:

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da administração da substância 25H-NBOMe sobre o comportamento materno e sua consequência para a prole.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) avaliar o ganho de peso das fêmeas durante os períodos pré e pós-natal;
- b) avaliar o ganho de peso da prole do nascimento até o 32º dia pós-parto;
- c) avaliar o comportamento materno imediato após aplicação de 25H-NBOMe e durante todo o período de lactação;
- d) avaliar atividade psicodélica nas fêmeas lactantes e não lactantes após tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0 mg/kg, i.p) pelos testes de HTR e Campo Aberto;
- e) avaliar as consequências para a prole, pós-tratamento de 25H-NBOMe nas mães, no 10º dia após o desmame pelos testes de Comportamento de Brincar e Interação Social.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos adultos fêmeas (oito semanas) da linhagem *Wistar*, pesando entre 200g e 250g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG. Os animais foram alojados em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção, tratados com ração peletizada normoproteica e água “ad libitum” e mantidos em sala climatizada a 21 ± 2 °C em ciclo 12 horas claro-escuro – luzes acesas às 7h.

Foram utilizados também machos (pesando de 270 a 300g) da mesma linhagem para o acasalamento, mantidos sob as mesmas condições.

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos a apreciação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIFAL-MG, com aprovação, sob o registro 28/2021 e 20/2022.

3.2 SUBSTÂNCIAS

25H-NBOMe (Sigma, Brasil) diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) a 25% (Sigma, Brasil), Tween 80 a 2% (Sigma, Brasil) e solução salina a 0,9% e administrada em dose única via intraperitoneal.

3.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.3.1 Acasalamento

Após o período de ambientação no biotério do Laboratório de Fisiologia Translacional, ao atingirem o peso de 200g, as ratas fêmeas foram transferidas para caixas com um rato macho, sexualmente experiente, para o acasalamento na proporção de três fêmeas para um macho. Após cinco dias de acasalamento, os machos foram retirados das caixas e as fêmeas separadas individualmente em uma caixa transparente (29 de comprimento x 44 cm de largura x 17 cm de altura) até o nascimento dos filhotes. A constatação de gestação foi realizada através do ganho de peso das fêmeas.

3.3.2 Padronização da ninhada

O dia do nascimento dos filhotes foi considerado como primeiro dia de lactação (1ºDL). No 2º dia de lactação, logo pela manhã (10h), as ninhadas foram padronizadas em oito filhotes, sendo quatro machos e quatro fêmeas para todos os procedimentos experimentais. A padronização ocorreu com animais de partos ocorridos no mesmo dia. As ninhadas foram divididas em: ninhada/filhotes de lactantes que receberam tratamento com NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0mg/Kg, i.p) e ninhada/filhotes de lactantes que receberam tratamento com veículo.

A orientação e distribuição dos grupos dos filhotes estão descrito na Tabela 1.

3.3.3 Fêmeas não prenhes

Fêmeas pesando entre 200g a 250g foram submetidas a lavado vaginal para identificação da fase do diestro do ciclo estral. As que corresponderam a esse período foram separadas individualmente em uma caixa de polipropileno para receberem a dose de tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0mg/kg) ou veículo correspondente e foram avaliadas nos testes de HTR e Campo Aberto.

3.3.4 Tratamento com 25H-NBOMe

A substância 25H-NBOMe apresentada na forma de pó, foi diluído em DMSO a 25%, Tween 80 a 2% e solução salina a 0,9%. Após a diluição, o fármaco foi administrado intraperitonealmente em ratas lactantes e não lactantes nos grupos veículo ou 25H-NBOMe (0,3mg/Kg ou 1,0mg/Kg) em dose única (MILIANO *et al.*, 2019). Imediatamente após a sua administração, testes comportamentais foram realizados (HTR e Campo Aberto). Dessa forma, os animais foram divididos em 6 grupos experimentais como descrito na Tabela 1.

Quadro 1 - Grupos experimentais

Fêmeas	Tratamento	Número Experimental (n)	Número de Filhotes para os Testes de Comportamentais da Prole	
			Teste de Comportamento de Brincar	Teste de Interação Social
Lactantes	Veículo	10	2 M e 2 F (n=20/sexo)	1 M e 1 F (n=8/sexo)
Lactantes	25H-NBOMe 0,3 mg/kg	10	2 M e 2 F (n=20/sexo)	1 M e 1 F (n=8/sexo)
Lactantes	25H-NBOMe 1,0 mg/kg	10	2 M e 2 F (n=20/sexo)	1 M e 1 F (n=8/sexo)
Não Lactantes	Veículo	8	-----	-----
Não Lactantes	25H-NBOMe 0,3 mg/kg	8	-----	-----
Não Lactantes	25H-NBOMe 1,0 mg/kg	8	-----	-----

Fonte: a autora

Legenda: M: machos; F: fêmeas; n: número de animais por grupo.

3.3.5 Pesagem das fêmeas lactantes e suas ninhadas

Para a avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes e suas respectivas ninhadas foi realizada diariamente a pesagem destes animais.

As lactantes tiveram seu peso registrado desde o primeiro dia de acasalamento. O ganho de peso foi utilizado para verificação de gestação, aos quais fêmeas com peso em torno de 280g a 300g foram isoladas para construção do ninho e parição. Ao longo da lactação houve mensuração e acompanhamento do peso até o vigésimo segundo dia de lactação (desmame). Foram no total 49 registros de peso diários.

Para a pesagem da ninhada, os filhotes foram agrupados em machos e fêmeas da mesma mãe lactante. Eles tiveram o peso mensurado e registrado, por grupo do

mesmo sexo, a partir do segundo dia de pós-parto (D2) até o décimo dia pós-desmame (32º dia de vida). Foram no total 30 registros de peso diários.

3.3.6 Análises estatísticas

Os dados foram analisados utilizando o programa do software GraphPad Prism versão 8.0 e expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para comparação das médias foi aplicado teste de análise de variância (ANOVA) One ou Two-way, seguidas do pós-teste de Newman-Keuls.

Para a análise do comportamento materno ao longo dos 20 dias, ganho de peso da mãe e da ninhada, teste de HTR nas fêmeas lactantes ou não lactantes e comportamento de brincar nos filhotes, foi utilizada ANOVA two-way. Para as análises do comportamento materno agudo foi empregada ANOVA one-way. Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

A seguir, serão descritos os testes comportamentais que foram realizados neste estudo.

3.4.1 Comportamento materno

A avaliação do comportamento materno foi realizada em dois momentos. Neste trabalho denominamos comportamento materno motivado (CM no dia do tratamento) e comportamento materno contínuo (CM durante o período de lactação).

3.4.1.1 Comportamento Materno Contínuo

O CM contínuo de cada rata lactante foi registrado diariamente durante três períodos do dia, do segundo até o vigésimo segundo dia de lactação. Foram três sessões diárias de 75 minutos de observação cada, as quais ocorreram em horários regulares, sendo as três análises durante a fase clara (8h, 12h e 16h) do ciclo claro-escuro. Em cada sessão, o comportamento das ratas lactantes foi registrado a cada três minutos, contabilizando um total de 25 observações por período x 3 períodos por dia = 75 observações/rata/dia.

Os comportamentos registrados foram divididos em maternais e não-maternais:

Maternais:

- Mãe lambendo os filhotes;
- Mãe sobre os filhotes em posição arqueada (cifose);
- Mãe sobre os filhotes em posição não arqueada;
- Mãe em posição passiva: deitada de costas ou de lado;
- Mãe construindo o ninho: quando a rata pega o filhote pela boca ou empurra-o para o ninho.
- Mãe em self-grooming (auto-limpeza, limpando aos mamilos)

Não-maternais:

- Mãe alimentando-se;
- Mãe não-explorando: quando a rata estiver longe do ninho e sem contato físico com os filhotes;
- Mãe explorando o ambiente longe dos filhotes;
- Mãe em self-grooming (auto-limpeza, exceto limpando os mamilos).

3.4.1.2 Comportamento Materno Motivado

O CM motivado de cada rata lactante foi realizado no quinto dia pós-parto. Após receberem a dose de tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0mg/kg; i.p.) ou veículo correspondente ao grupo que pertenciam, as fêmeas foram separadas da ninhada por trinta minutos. Posteriormente, os filhotes foram espalhados dentro da caixa e fora do ninho e as mães recolocadas na caixa com a ninhada. Os trinta minutos recorrentes a reintegração da mãe com os filhotes foram monitorados por vídeo.

Os comportamentos registrados para análise foram:

- Tempo que a mãe levou para colocar cada filhote no ninho;
- Tempo e frequência que a mãe lambia os filhotes;
- Tempo e frequência que a mãe ficava sobre os filhotes, não arqueada;
- Tempo e frequência que a mãe ficava sobre os filhotes em posição arqueada (cifose);

3.4.2 Atividade psicodélica

A atividade psicodélica foi realizada em fêmeas lactantes e em não lactantes para avaliar se o efeito alucinógeno é semelhante em ambas as fêmeas.

Para a realização em fêmeas não lactantes, foram selecionadas 24 fêmeas (oito fêmeas para cada grupo experimental), pesando entre 200g a 250g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG. Após seleção, foi realizado lavado vaginal e as fêmeas que se encontravam em fase de diestro do ciclo estral foram separadas para a realização dos testes. As fêmeas foram pesadas e seus pesos foram usados como base para o cálculo da dose de 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0mg/kg) ou veículo. Após a pesagem e aplicação da dose, as fêmeas foram submetidas os testes de HTR e Campo Aberto. A realização dos testes foi igualmente executada como para fêmeas lactantes, descritos a seguir.

3.4.2.1 Resposta de Contração da Cabeça (HTR)

A resposta de contração da cabeça (HTR, do inglês Head-Twitch Response) tem sido usada para avaliar a atividade alucinógena. É definida como um movimento rápido e rítmico de rotacionar a cabeça de um lado para o outro, semelhante a uma “sacudida de cachorro molhado”. O HTR ocorre após administração de alucinógenos serotoninérgicos e há um consenso que esse comportamento é mediado por receptores 5-HT_{2A} (FANTEGROSSI *et al.*, 2008; NICHOLS, 2016). Em ratos, o HTR é uma mistura com o WDS (do inglês Wet Dog Shakes - tremer de cachorro molhado), que é um movimento mais intenso, rotacionando a cabeça e o corpo (HALBERSTADT; GEYER, 2018).

No quinto dia pós-parto, após a administração de dose de 25H-NBOMe ou veículo, as lactantes foram submetidas ao teste de HTR em um aparato quadrado de vidro (60 cm de comprimento x 60 cm de largura x 60 cm de altura) com fundo preto, filmadas por 20 minutos, para posterior análise. Em seguida, o aparato foi limpo com solução de etanol a 5%, e a análise foi realizada manualmente através da observação do investigador.

3.4.2.2 Campo Aberto

Para reduzir a insegurança sobre um ambiente, os animais são motivados a explorar seus arredores. Para demonstrar os efeitos alucinógenos, são utilizadas avaliações de comportamento exploratório em roedores, como a verificação da atividade locomotora em campo aberto, (HALBERSTADT; GEYER, 2018).

Após realizarem o teste de HTR, as fêmeas foram colocadas individualmente no centro de uma arena redonda de acrílico, de fundo preto, (50 cm de altura x 60 cm de diâmetro), e filmadas por 5 minutos para posterior análise. Em seguida, o aparato foi limpo com solução de etanol a 5%, e a análise foi realizada automaticamente pelo software Ethovision XT versão 9.0.

3.4.3 Comportamento dos filhotes

3.4.3.1 Teste de Comportamento de Brincar

Para avaliar a performance social dos filhotes na pré-puberdade é utilizado o teste de comportamento de brincar (PANKSEPP, 1981). A metodologia foi executada de acordo aos protocolos estabelecidos no Laboratório de Fisiologia Translacional.

Os filhotes das ratas que foram utilizadas para registro do comportamento materno foram desmamados no 22º dia de lactação. Os filhotes foram separados por sexo em caixas distintas, onde permaneceram até completarem 32 dias de vida, quando foram submetidos ao teste.

O teste foi realizado em um aparato quadrado de vidro (60 cm de comprimento x 60 cm de largura x 60 cm de altura). Os filhotes foram habituados individualmente ao aparato durante 10 minutos por três dias antes do dia do experimento, de modo a evitar que o comportamento exploratório atrapalhe a exibição do comportamento de brincar. No dia do teste (32º dia pós-parto), os filhotes foram isolados por 3h30min, antes do teste, para aumentar sua motivação social e assim facilitar a expressão do comportamento de brincar.

O teste consiste em colocar dois filhotes pertencentes ao mesmo grupo experimental, porém de ninhadas diferentes, na arena de teste durante 15 minutos e as interações do comportamento de brincar foram registradas para posterior análise manual. Todos os testes foram realizados no período das 09h às 16h.

Os comportamentos registrados para análise foram:

- Frequência e tempo gasto em sniffing (cheirando o parceiro) - exploração social ao qual o filhote cheira qualquer parte do corpo do parceiro de teste, incluindo a área anogenital;
- Frequência e tempo gasto em following (seguindo o parceiro) - avançando na direção ou seguindo o outro filhote, que se afasta;

- Frequência de pouncings (chamar para brincar): quantidade de vezes que o filhote puxa o parceiro para brincar, através de pequenas mordidas na nuca ou orelha;
- Frequência e tempo gasto de pinnings (aceite da brincadeira ficando em decúbito dorsal) – quantidade de vezes e período que o filhote aceita brincar e permanece de barriga para cima com parceiro em cima dele;
- Tempo total de interação, onde foram somados os tempos durante os comportamentos.

3.4.3.2 Teste de Interação Social em Aparato de Três Câmaras

No décimo dia pós desmame, os filhotes foram submetidos ao teste de três câmaras para avaliação de interação social. O teste foi realizado conforme descrito por Cho e colaboradores (2017).

O aparato é uma caixa retangular com três câmaras feita de Plexiglas transparente, com piso removível e divisórias. Cada câmara tem 30 cm de comprimento x 60 cm de largura x 35 cm de altura. O teste consiste em três fases: na primeira (habituação), o filhote teste (R1) foi colocado no centro do aparelho vazio de três câmaras com duas pequenas gaiolas de acrílico na câmara esquerda ou direita para habituar por 10 minutos; na segunda (teste de sociabilidade), o R1 foi isolado na câmara central do aparato e um filhote “desconhecido 1” (R2) pareado por idade e sexo, que nunca havia sido exposto ao R1, foi colocado em uma das duas gaiolas de acrílico. Em seguida, as duas entradas da câmara central foram abertas para permitir que o R1 situado no centro explorasse livremente cada uma das três câmaras por 10 minutos. Na terceira fase (teste de preferência de novidade social), novamente o R1 foi isolado na câmara central do aparato e outro novo filhote “desconhecido 2” (R3) pareado por idade e sexo foi colocado na gaiola de acrílico vazia. Em seguida, as duas entradas foram abertas para permitir que o R1 no centro explorasse livremente o aparato por mais 10 minutos, finalizando o teste. O aparato foi limpo cuidadosamente com etanol 5%. Todos os testes foram realizados entre 9h e 16h. O tempo que o R1 gastou para colocar a ponta do nariz na proximidade imediata da gaiola de acrílico, onde os ratos “desconhecidos” se situavam, foi calculado manualmente pelo pesquisador.

4 DELINEAMENTO EXPERIEMANTAL

Descreveremos a seguir os protocolos experimentais que foram utilizados no presente estudo:

4.1 PROTOCOLO 1: Avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes e suas ninhadas

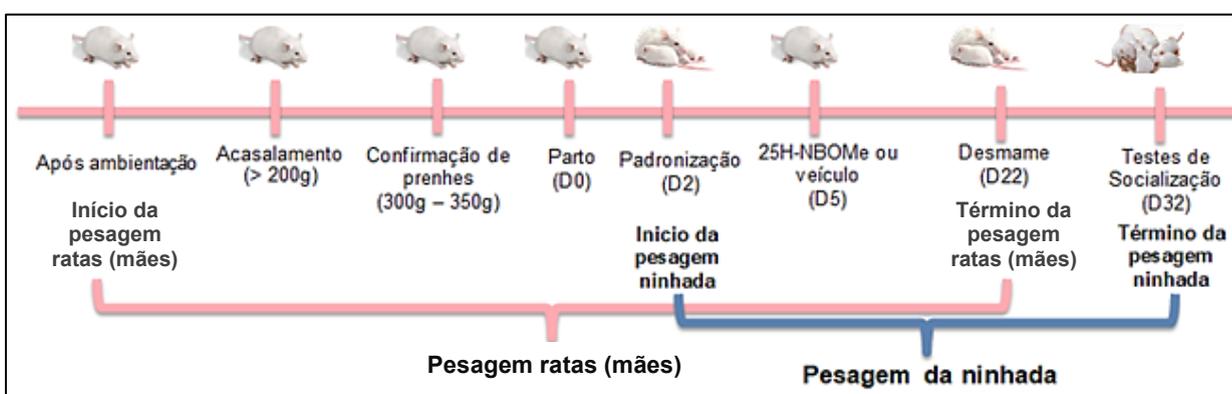
Após a ambientação das ratas no biotério do Laboratório de Fisiologia Translacional, iniciou-se o acompanhamento do ganho de peso diário das mesmas com início simultâneo do acasalamento. Os animais passaram pela confirmação da gestação, pelo parto e período de lactação. Em todas essas fases os pesos foram mensurados e registrados no período da manhã, entre os horários das 10h às 12h.

O dia que as fêmeas pariram foi considerado o D0 (dia zero). Não havendo nesse dia manipulação das caixas e nem pesagem da mãe e ninhada. No D2 foi realizada a padronização da ninhada. Foram separados para cada mãe quatro machos e quatro fêmeas. Havendo neste dia, pesagem e troca de caixa.

A avaliação do ganho de peso da ninhada deu-se início no segundo dia pós-parto (D2), quando a ninhada estava padronizada. Os filhotes foram pesados separados por sexo, mas agrupados por mesma mãe lactante. A pesagem da ninhada encerrou-se no décimo dia pós desmame (32º dia de vida), quando iniciou-se os testes de comportamento da ninhada.

Na Figura 5 está esquematizado o início e término da pesagem dos animais.

Figura 5 - Representação do protocolo da avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes e suas ninhadas



Fonte: a autora

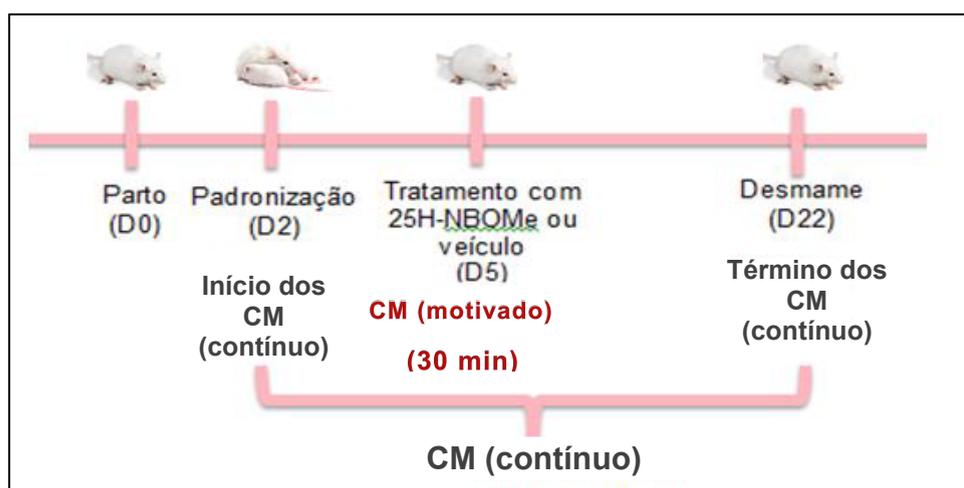
4.2 PROTOCOLO 2: Avaliação de comportamento materno em ratas lactantes

As observações do comportamento materno, denominado contínuo, se iniciou no dia 2 pós-parto (D2) sendo realizadas no período claro, às 8h, 12h e 16h. Essas observações foram realizadas até o 22º dia pós-parto (desmame). Totalizando 20 dias de observações.

O comportamento materno denominado motivado foi realizado em uma única observação, trinta minutos após o tratamento com 25H-NBOMe ou veículo, no quinto dia pós-parto (D5). Todas as observações deste comportamento materno foram realizadas entre as 14h e 16h.

A Figura 6 representa como esse protocolo foi realizado.

Figura 6 - Representação do protocolo da avaliação do comportamento materno em ratas lactantes



Fonte: a autora

4.3 PROTOCOLO 3: Avaliação da atividade psicodélica

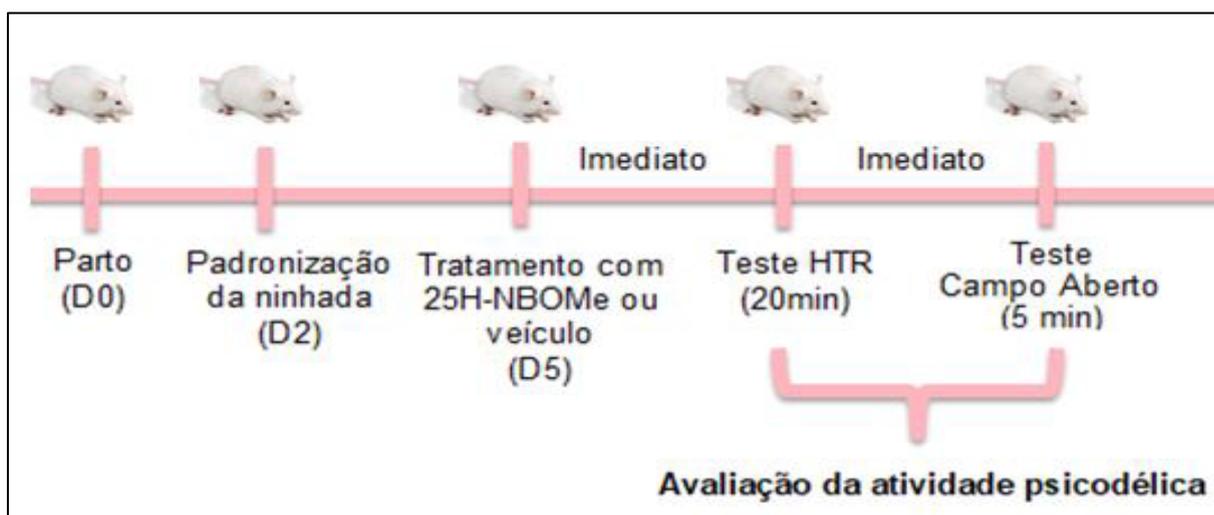
No quinto dia pós-parto (D5), foi realizado nas fêmeas lactantes o tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0mg/kg) ou veículo. Imediatamente após o tratamento, os testes para avaliação da atividade psicodélica foram realizados. Primeiro o teste de HTR com duração de 20 minutos e, posteriormente, o teste de Campo Aberto com duração de cinco minutos, conforme Figura 7.

Nas fêmeas não lactantes, após a detecção da fase de diestro em cada animal, foi realizado o tratamento com 25H-NBOMe (0,3mg/kg ou 1,0mg/kg) ou veículo. Imediatamente após o tratamento, os testes de HTR, com duração de 20 minutos, e

Campo Aberto, com duração de cinco minutos, foram realizados. Na Figura 8 há a representação deste protocolo.

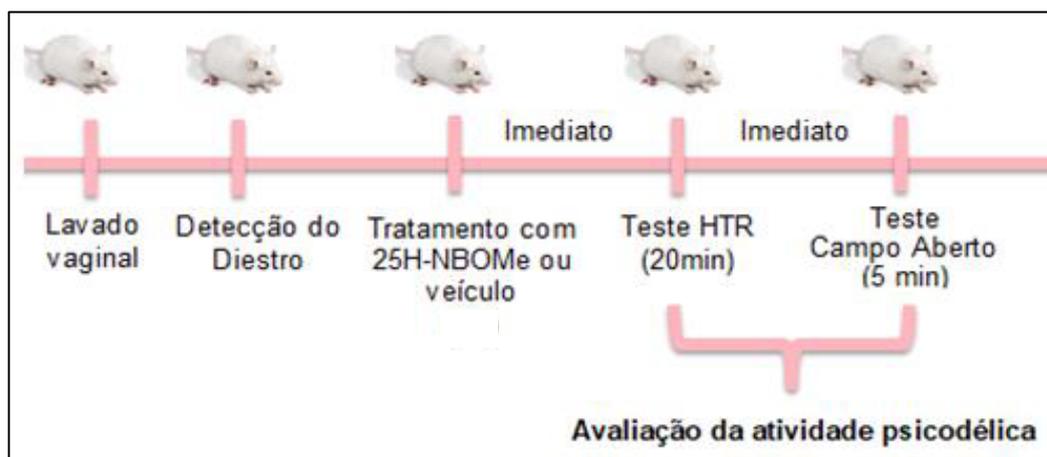
Todos os testes para avaliação psicodélica ocorreram no período entre 14h e 16h.

Figura 7 - Representação do protocolo da avaliação da atividade psicodélica em ratas lactantes



Fonte: a autora

Figura 8 - Representação do protocolo da avaliação da atividade psicodélica em ratas não lactantes



Fonte: a autora

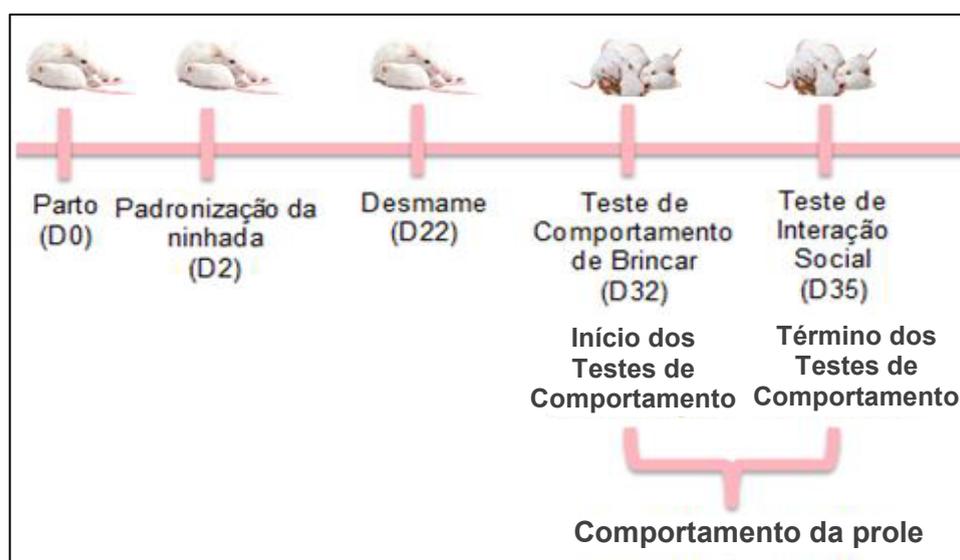
4.4 PROTOCOLO 4: Avaliação do comportamento da prole

No 32º dia pós-parto, os filhotes desmamados, foram submetidos ao teste de comportamento de brincar por 15 minutos e posteriormente, ao teste de interação

social em aparato de três câmaras por 30 minutos. Após os testes os filhotes voltaram para suas respectivas caixas e estantes. Os testes ocorreram entre às 9h e 16h e realizados em um prazo de três dias corridos devido à quantidade de animais.

A Figura 9 representa o protocolo descrito.

Figura 9 - Representação do protocolo da avaliação do comportamento da prole



Fonte: a autora

5 RESULTADOS

São descritos a seguir os resultados obtidos após a realização dos experimentos.

5.1 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO

5.1.1 Comportamento Materno Contínuo (CMC)

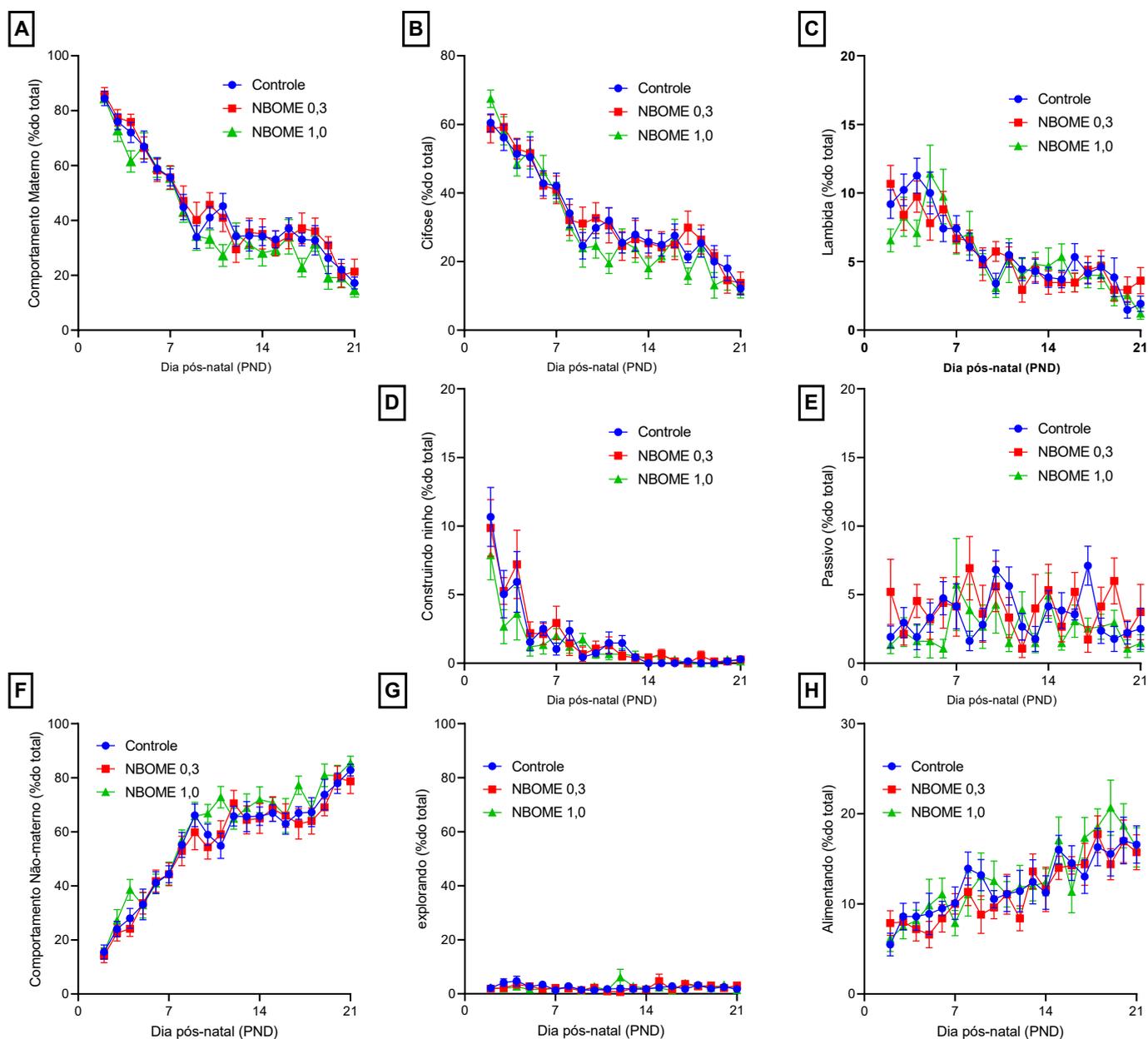
A análise diária do comportamento materno exibido pelas mães foi realizada ao longo dos 21 dias de lactação (DL), a partir do 2ºDL. Foram identificados 4 parâmetros considerados maternos e 2 não-maternais, sendo que a soma dos mesmos foi representada como comportamento materno total (CMT) e não-materno total (CnMT), respectivamente.

A Figura 10 mostra os parâmetros maternos e não maternos avaliados no CMC em ratas lactantes submetidas ao tratamento com veículo ou 25H-NBOMe (0,3mg/Kg ou 1,0 mg/Kg, i.p) cinco dias após o parto.

Nota-se que o grupo de mães tratadas com 25H-NBOMe na dose de 1,0mg/Kg apresentaram uma redução do CMT (Fig 10A) e do parâmetro cifose (Fig.10B) em relação ao grupo controle. Porém, como nos parâmetros lambida, construção de ninho e passivo (Fig. 10C, 10D e 10E, respectivamente), não observamos diferença estatística entre os grupos testados.

Observa-se um aumento significativo do comportamento não materno total no grupo de tratamento 1,0mg/Kg (Fig. 10F) em relação ao grupo controle. Entretanto, como nos parâmetros exploração e alimentação (Fig. 10G e 10H, respectivamente) não observamos diferença significativamente estatística entre os grupos testados.

Figura 10 - Efeito do tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/Kg ou 1,0 mg/Kg) no comportamento materno contínuo em fêmeas ao longo da lactação.



Fonte: a autora.

Legenda: Comportamento materno total (A), cifose (B), lambendo os filhotes (C), construindo ninho (D), posição passiva (E) e comportamento não materno total (F), explorando o ambiente (G) e alimentando (H). Linhas indicam média \pm erro padrão da média. n=10 para cada grupo.

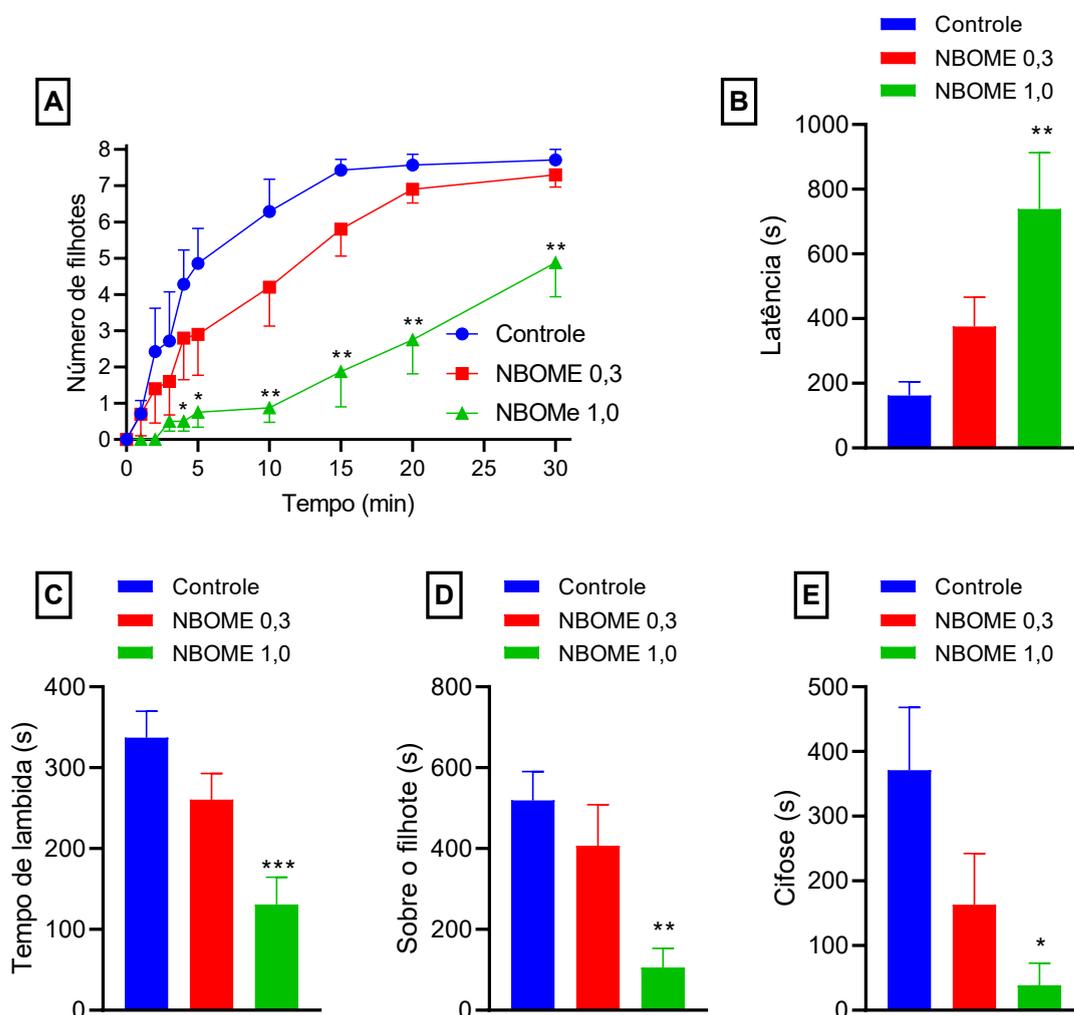
5.1.2 Comportamento Materno Motivado (CMM)

Na Figura 11 é possível avaliar a performance de ratas lactantes submetidas ao teste de comportamento materno motivado 30 minutos após o tratamento com veículo ou 25H-NBOMe (0,3 ou 1,0 mg/Kg, i.p), realizados no quinto dia após o parto.

Nota-se em todos os grupos testados o aumento do número de filhotes transportados para o ninho conforme o passar do tempo. Entretanto, as ratas tratadas com 25H-NBOMe (1,0mg/Kg, i.p) levaram menos filhotes ao ninho (Fig. 11A), bem como demoraram mais tempo para iniciar essa tarefa (Fig. 11B) em relação ao grupo controle.

Além disso, observamos em ratas tratadas com 25H-NBOMe (1,0mg/Kg, i.p) uma redução significativa dos parâmetros tempo de lambida (Fig 11C), sobre o filhote (Fig 11D), e cifoze (Fig 11E) em relação as ratas tratadas com veículo.

Figura 11 - Efeito do tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/Kg ou 1,0 mg/Kg) no comportamento materno motivado em fêmeas no quinto dia de lactação.



Fonte: a autora.

Legenda: Número de filhotes levado ao ninho (A), tempo gasto para levar os filhotes ao ninho (latência) (B), tempo gasto lambendo os filhotes (C), tempo gasto sobre os filhotes (D), tempo em posição de cifose (E). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo controle. Barras indicam média \pm erro padrão da média. $n = 10$ para cada grupo.

5.2 AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO DAS MÃES E DA NINHADA

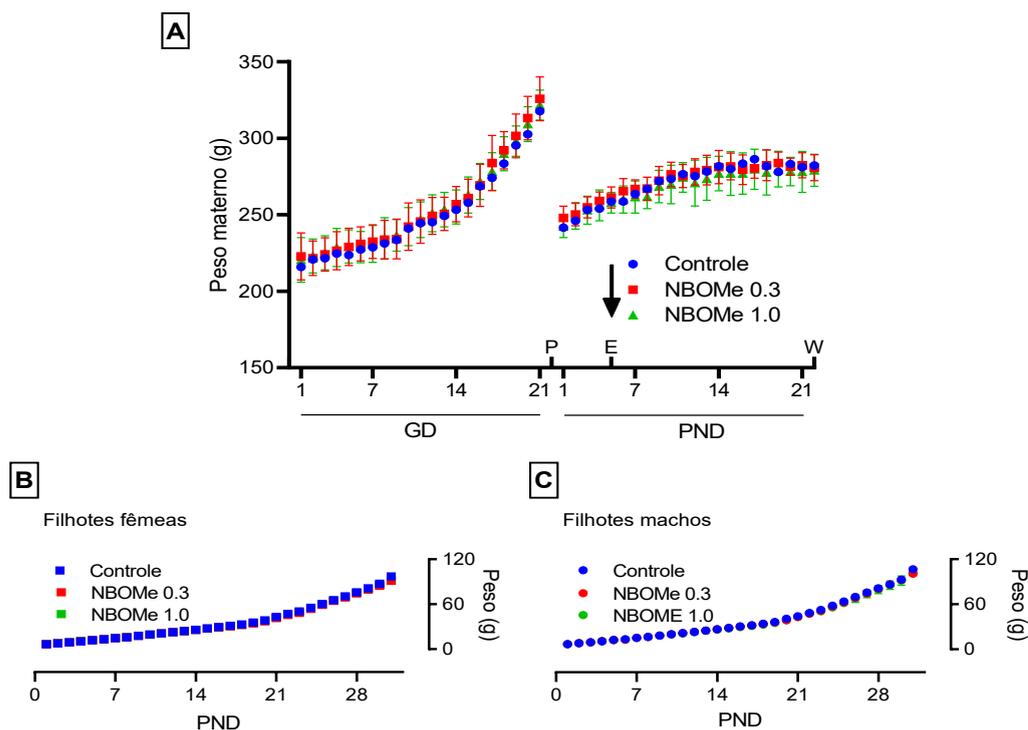
A Figura 12 mostra o perfil de ganho de peso em fêmeas prenhas e, posteriormente, lactantes que receberam o tratamento com veículo (1,0 mg/kg) ou 25H-NBOMe (0,3mg/Kg ou 1,0 mg/Kg, i.p) no quinto dia pós-parto, bem como, das ninhadas macho e fêmea destas mães.

A análise do ganho de peso das fêmeas lactantes deu-se início desde o período de acasalamento até o dia do desmame, conforme sinalizado na figura 12A, onde GD são os dias de gestação e PND são os dias pós-natal.

Observa-se um aumento progressivo do ganho de peso em fêmeas durante o período GD, o qual reduziu significativamente após o parto em todos os grupos testados (Fig 12A). Nota-se ainda, que a perda de peso das mães após o parto não impactou no peso das ninhadas macho e fêmea em todos os grupos testados, uma vez que, ao decorrer dos dias, os mesmos também ganharam peso (Fig 12B e 12C, respectivamente).

Quanto ao efeito do tratamento com 25H-NBOMe (0,3 ou 1,0 mg/Kg, i.p) sobre o ganho de peso em ratas lactantes e de suas ninhadas, não observamos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados (Fig. 12A, 12B e 12C).

Figura 12 - Avaliação do ganho de peso das fêmeas e suas ninhadas.



Fonte: a autora.

Legenda: Ganho de peso materno desde o primeiro dia de gestação até o desmame (A) [(P) = dia do parto; (E) e seta = dia de tratamento e (W) = dia do desmame], ganho de peso dos filhotes fêmeas (B), ganho de peso dos filhotes machos (C). Linhas indicam média \pm erro padrão da média. n=10 para cada grupo das mães e n=4 para cada grupo de filhotes, separados entre machos e fêmeas.

5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALUCINÓGENA

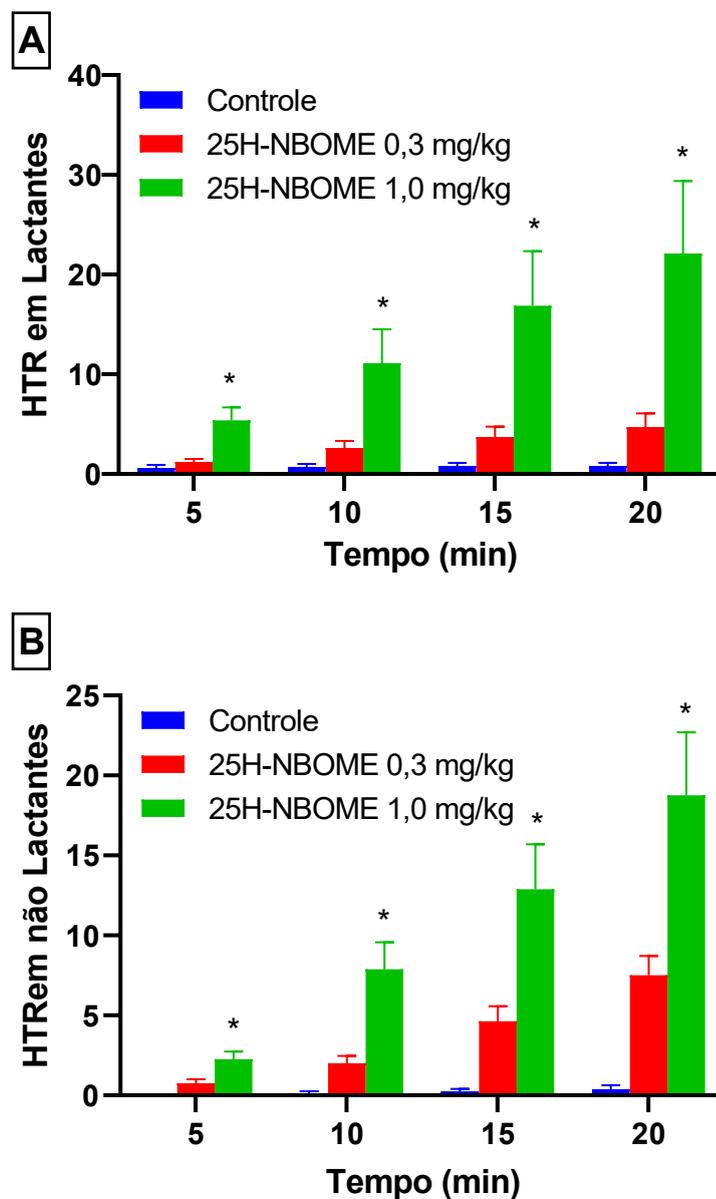
5.3.1 Efeito do teste de HTR

A figura 13 representa o desempenho que as fêmeas lactantes e não lactantes obtiveram no teste de HTR após a administração da droga psicodélica 25H-NBOMe nas doses de 0,3mg/kg ou 1,0mg/kg, durante 20 minutos após administração imediata.

É possível observar que tanto as lactantes (Fig. 13A) quanto as não lactantes (Fig. 13B) do grupo 25H-NBOMe (1,0mg/kg) fizeram mais HTR em comparação ao grupo controle.

Notamos também que os resultados foram tempo dependente, nos fazendo concluir que a substância (25H-NBOMe) tem efeito alucinógeno.

Figura 13 - Efeito do tratamento com 25H-NBOMe sobre a frequência dos movimentos HTR



Fonte: a autora.

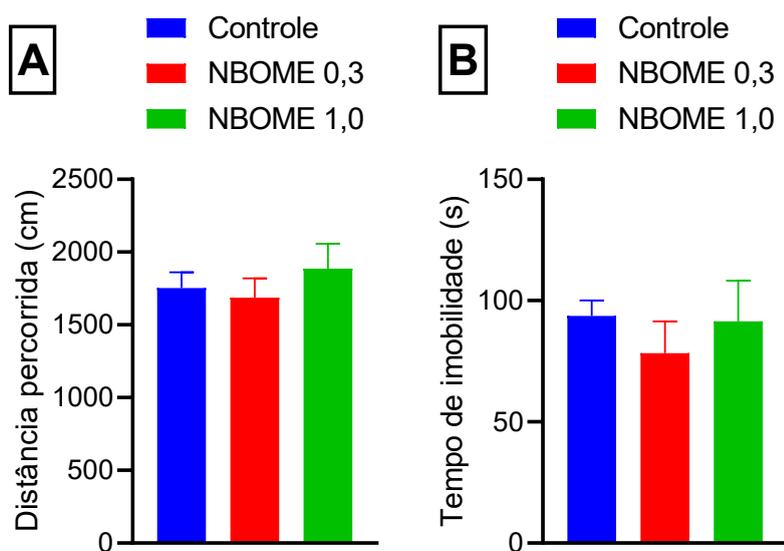
Legenda: Quantidade de movimento HTR em fêmeas lactantes (A) e não lactantes (B). * $p < 0,05$, quando comparados com o grupo controle. Barras indicam média \pm erro padrão da média. $n=10$ para cada grupo de lactantes e $n=8$ para cada grupo de não lactantes.

5.3.2 Efeito do teste de Campo Aberto

O teste no aparato de campo aberto foi realizado para avaliar a capacidade locomotora e exploratória dos animais frente ao tratamento com 25H-NBOMe. Para isso, foram observados os parâmetros de distância percorrida (cm) e tempo de imobilidade (s) por 5 minutos representados nas figuras 14 e 15, em A e B, respectivamente.

Observamos que nos dois parâmetros analisados, não houve diferença estatística dos grupos de tratamento com 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0mg/kg) comparados com o grupo controle, tanto para as fêmeas lactantes (Figura 14) como para as fêmeas não lactantes (Figura 15).

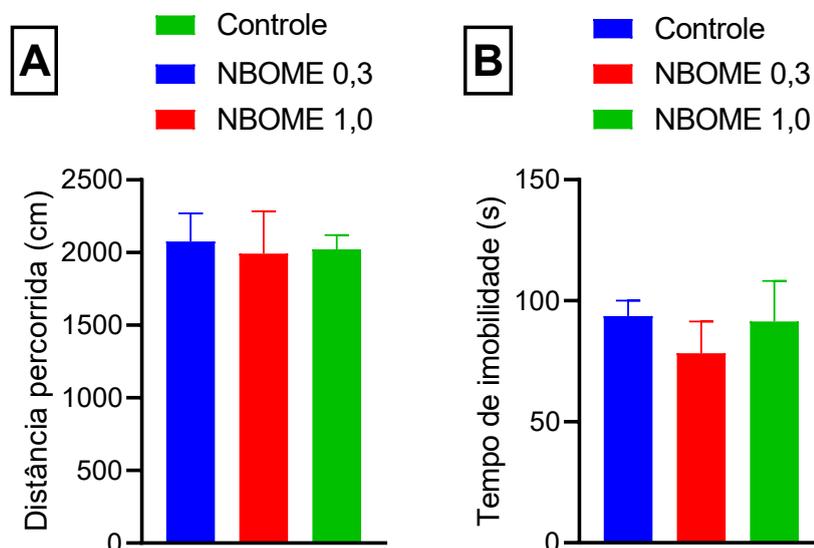
Figura 14 - Efeito do tratamento com 25H-NBOMe sobre a capacidade locomotora e exploratória das fêmeas lactantes.



Fonte: a autora.

Legenda: Distância percorrida durante o teste de campo aberto (A), tempo de imobilidade durante o teste de campo aberto (B). Barras indicam média \pm erro padrão da média. n=10 para cada grupo.

Figura 15 - Efeito do tratamento com 25H-NBOMe sobre a capacidade locomotora e exploratória das fêmeas não lactantes.



Fonte: a autora.

Legenda: Distância percorrida durante o teste de campo aberto (A), tempo de imobilidade durante o teste de campo aberto (B). Barras indicam média \pm erro padrão da média. n=8 para cada grupo.

5.4 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DOS FILHOTES

5.4.1 Comportamento de brincar

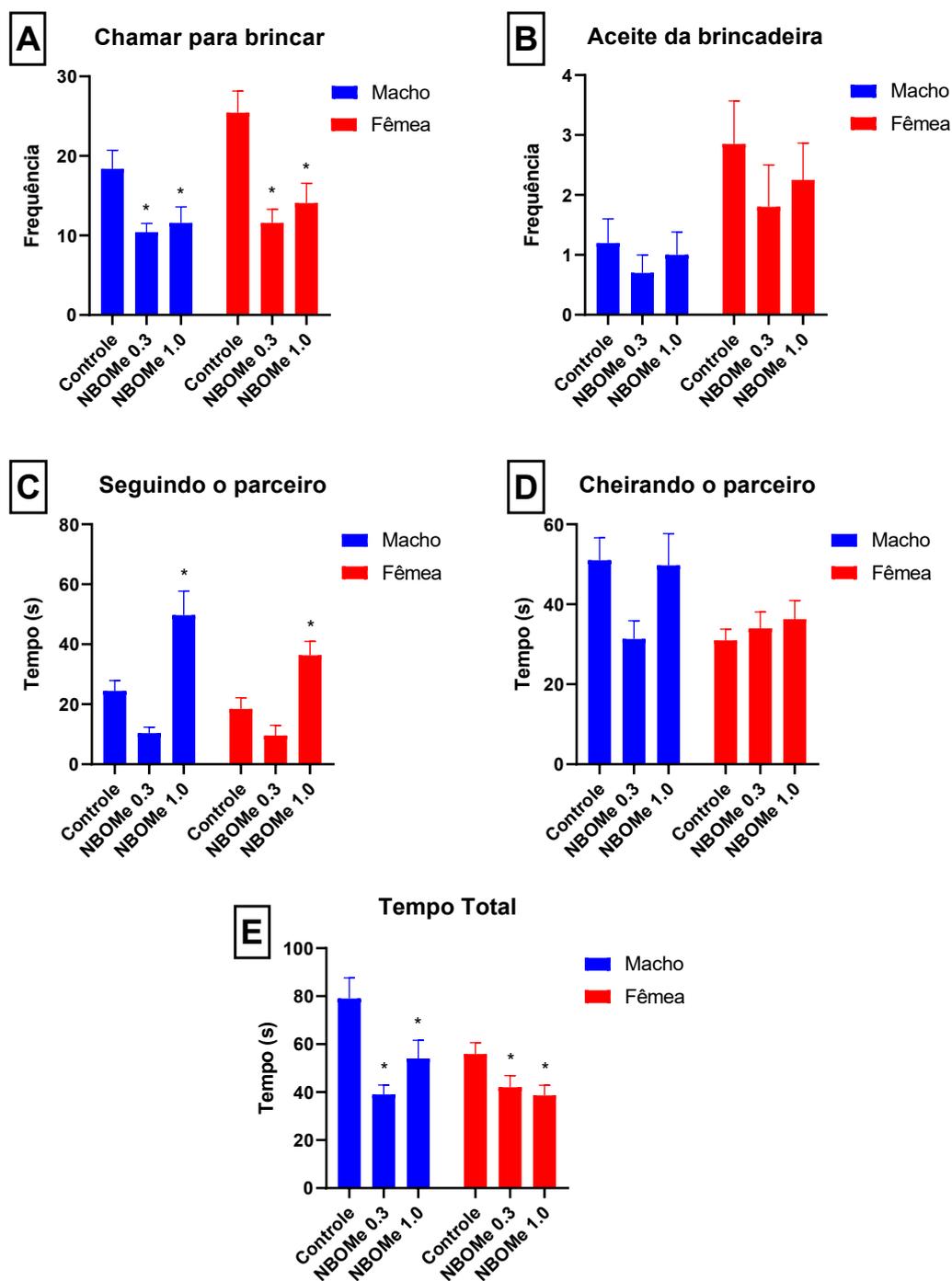
Na figura 16 podemos analisar o comportamento de brincar dos filhotes, separados em machos e fêmeas, dez dias pós desmame (32º dia pós-parto).

Percebemos que no comportamento de chamar para brincar (pouncing), as fêmeas controle são mais frequentes que os machos, porém, em ambos os grupos de tratamento de 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0mg/kg), esse comportamento estava reduzido (Fig 16A).

No comportamento de seguir o parceiro (following), o grupo de tratamento 25H-NBOMe 1,0mg/kg, percebemos que ambos os sexos ficaram mais tempo seguindo o parceiro (Fig 16C).

Notamos na figura 16E que os machos do grupo controle fizeram mais contato social do que as fêmeas do mesmo grupo. Nos grupos tratamentos de 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0mg/kg), houve uma redução do tempo total do comportamento de brincar de ambos os sexos.

Figura 16 - Avaliação do comportamento dos filhotes no teste de comportamento de brincar



Fonte: a autora.

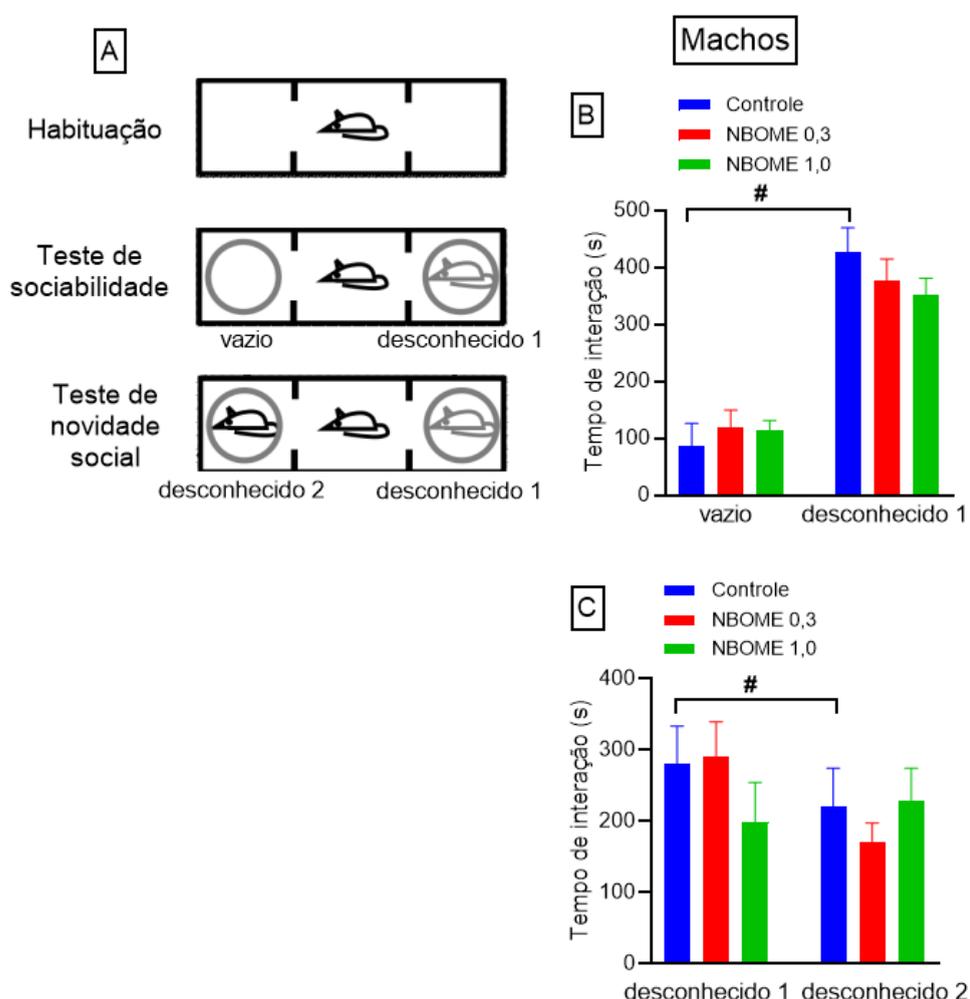
Legenda: Tempo gasto chamando o parceiro para brincar (A), Tempo gasto ficando em posição de decúbito dorsal (B), Tempo gasto seguindo o parceiro (C), Tempo gasto cheirando o parceiro (D), Tempo gasto total de interação entre os filhotes (E). * $p < 0,05$, quando comparados com o grupo controle. Barras indicam média \pm erro padrão da média. $n=20$ para cada grupo, tanto macho quanto fêmea.

5.4.2 Interação Social

Na figura 17 temos o resultado do teste de interação social com os filhotes machos de todos os grupos de fêmeas lactantes.

Percebemos em 17B que os animais teste apresentam maior tempo de interação quando há a presença de um desconhecido no aparato. Já em 17C percebemos que os animais preferiram o desconhecido 1 que não era novidade. Porém, não há diferença estatística entre os grupos cujas mães foram tratadas com 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0mg/kg) comparados ao grupo controle.

Figura 17 - Avaliação do comportamento dos filhotes machos no teste de interação social



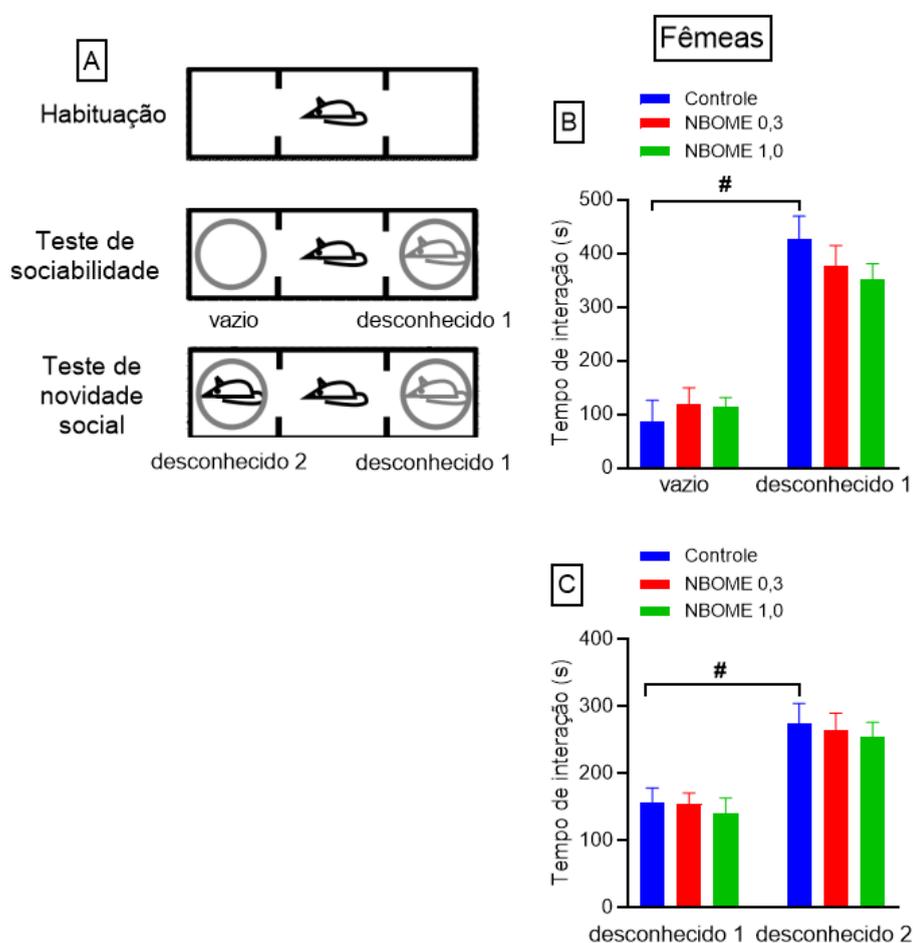
Fonte: a autora.

Legenda: Esquematização da ordem de realização do teste (A), tempo de interação do animal teste com o desconhecido 1 (B), tempo de interação do animal teste com o desconhecido 1 e desconhecido 2 (C). # indica que o grupo controle fugiu do padrão esperado de novidade social. Barras indicam média \pm erro padrão da média. n=8 para cada grupo.

Na figura 18 temos o resultado do teste de interação social com os filhotes fêmeas de todos os grupos de fêmeas lactantes.

Percebemos em 18B que os animais teste apresentam maior tempo de interação quando há a presença de um desconhecido no aparato. Em 18C observamos que as fêmeas tiveram maior preferência pelo desconhecido 2, que era novidade, do que pelo desconhecido 1 no segundo momento do teste, o que não ocorreu com os machos. Porém, não há diferença estatística entre os grupos cujas mães foram tratadas com 25H-NBOMe (0,3mg/kg e 1,0mg/kg) comparados ao grupo controle.

Figura 18 - Avaliação do comportamento dos filhotes fêmeas no teste de interação social



Fonte: a autora.

Legenda: Esquematização da ordem de realização do teste (A), tempo de interação do animal teste com o desconhecido 1 (B), tempo de interação do animal teste com o desconhecido 1 e desconhecido 2 (C). # indica que o grupo controle manteve o padrão esperado de novidade social. Barras indicam média \pm erro padrão da média. n=8 para cada grupo.

6 DISCUSSÃO

O comportamento materno é um cuidado da mãe, iniciado no pós-parto e facilmente observável, que, quando bem aplicado, leva ao sucesso reprodutivo, físico, psicológico e social da prole (CAPONE *et al.*, 2005). O vínculo de mãe-filhote é reforçado por estímulos como táteis e pela própria amamentação. A reciprocidade nessa interação promove resiliência fisiológica, imunológica e desenvolvimentos motores, emocionais e cognitivos da prole. O comportamento materno genuíno possibilita a sobrevivência da espécie. Entretanto, falhas nesse cuidado materno resultam em déficits cognitivos e efeitos graves no desenvolvimento do ser em formação, interferindo na vida adulta (MANDUCA *et al.*, 2012; STARR-PHILLIPS *et al.*, 2014).

Deste modo, diante de tantas interferências ambientais, como o uso de substâncias ilícitas, que podem influenciar o comportamento da mãe, na sociedade atual, faz-se necessário o uso de modelos animais para avaliar os efeitos de intercorrências durante o comportamento materno. Usamos nesse trabalho uma substância psicodélica, NBOMe, que, nos últimos anos, traz preocupações para órgãos públicos (SUZUKI *et al.*, 2015; BARROS *et al.*, 2021), devido ao seu alto teor de efeitos adversos graves (NICHOLS, 2016; TIRRI *et al.*, 2022) e a sua fácil distribuição entre jovens desinformados.

Acredita-se que a interação entre o comportamento materno e a substância psicodélica está na ativação dos receptores serotoninérgicos (5-HT). As funções psicológicas altamente ativadas na manutenção do comportamento materno estão intimamente envolvidas aos receptores 5-HT (CHEN *et al.*, 2014; LIN *et al.*, 2003; REZAEI *et al.*, 2021). Em seu trabalho, Gao e colaboradores (2018) apresentaram sugestões de sistemas neurais onde receptores 5-HT podem influenciar nas modulações no comportamento materno, dentre elas o fato de receptores serotoninérgicos interagirem com estruturas corticais, como a área pré-óptica medial que, como visto anteriormente, tem influência no comportamento materno.

Com base nessas justificativas, realizamos testes comportamentais para avaliar o efeito da substância psicodélica 25H-NBOMe diante do comportamento materno e se o uso dela, em dose única, traria consequências para a prole. Nossos dados são os primeiros a conectar, em modelo animal, o comportamento materno de fêmeas lactantes com o uso de substância psicodélica.

O termo CM “contínuo” foi usado devido as fêmeas poderem exercer sua maternidade sem interferências externas, de modo que o CM foi avaliado a uma distância que não fosse notada a presença do observador. O termo CM “motivado” foi utilizado devido, após separação da ninhada, a fêmea ser motivada a realizar o comportamento materno, uma vez que seus filhotes estavam todos espalhados pelo ambiente da caixa.

6.1 EFEITO DO TRATAMENTO DE 25H-NBOME, EM DOSE ÚNICA, NO QUINTO DIA DE LACTAÇÃO, NO COMPORTAMENTO MATERNO E NO GANHO DE PESO DAS FÊMEAS E DA PROLE

Para responder nossa primeira incógnita, avaliamos o comportamento materno ao longo dos 21 dias de lactação, chamando-o de comportamento materno contínuo. Percebemos que apesar do comportamento diminuir com o passar dos dias e o comportamento não materno aumentar, não há diferença estatística que nos permita sugerir declínio no comportamento materno em resposta à administração da substância. Devemos lembrar também que é fisiológico esse declínio, pois as fêmeas lactantes tendem a diminuir seus cuidados maternos ao longo da lactação, permitindo maior independência aos filhotes, conforme sugere Capone e colaboradores (2005) e Levy (2016).

Em contrapartida, com a separação materna, estimulando o comportamento motivado, percebemos que, após trinta minutos da administração de 25H-NBOMe nas fêmeas lactantes, há um declínio no parâmetro de recuperação dos filhotes ao ninho e uma maior latência (na dose de 1,0mg/kg) para isto, implicando que as fêmeas, sob efeito da substância, cuidam menos da prole. Nossos resultados condizem com Vilela e Giusti-Paiva (2014), que ao analisarem o CM motivado, 30 minutos após administração de WIN 55,212-2 (agonista do receptor canabinoide, pertencente ao mesmo grupo de drogas psicotrópicas deste estudo, que alteram o comportamento do indivíduo), constataram que a recuperação de filhotes foi prejudicada e aumentou a latência quando comparado ao grupo controle.

Jaster e colaboradores (2022) avaliaram o movimento de contração da cabeça (HTR) dos animais após administração de LSD (substância psicodélica) por 90 minutos em animais machos e constataram que o HTR atingiu o pico em 30 minutos antes de diminuir. Sugerimos que o efeito motivado no cuidado materno pode estar

relacionado ao pico de alucinações que ocorre após a administração da substância (no nosso estudo, o teste de CM motivado foi realizado 30 minutos após a administração de 25H-NBOMe), o que não foram observados em comportamentos contínuos ao longo dos 21 dias de lactação. No entanto, são necessários estudos mais detalhados sobre os efeitos alucinógenos da substância.

Na avaliação do ganho de peso das fêmeas lactantes ao longo da gestação e lactação, constatamos que houve aumento do peso durante a gestação, contudo, após o parto, o peso teve um decréscimo, mas manteve-se constante, não havendo alteração estatística entre os grupos tratados. Esse resultado nos sugere que a não alteração no CM ao longo do período de lactação permitiu que as fêmeas pudessem manter sua nutrição de maneira adequada, uma vez que o parâmetro não materno de alimentação não apresentou diferença estatística entre os grupos analisados.

Com relação ao ganho de peso da ninhada, percebemos que machos e fêmeas ganham peso ao longo do período de lactação e mantem esse ganho no pós-desmame. Sugerindo que a droga não altera o ganho de peso das mães e, conseqüentemente, também não interfere do ganho de peso da prole, uma vez que a relação mãe-filhote é muito bem estabelecida durante a fase de lactação.

Porém, são necessários mais estudos para se compreender como tal comportamento de fato interfere no peso dos animais. Dado que, Costa e colaboradores (2013), após administrarem WIN 55,212-2 (i.c.v) durante 7 dias em fêmeas lactantes, obtiveram aumento no ganho de peso das fêmeas tratadas comparado com as do grupo controle, mas não houve alteração no ganho de peso da ninhada, nos permitindo conjecturar que o tempo de tratamento pode interferir no ganho de peso dos animais.

6.2 AVALIANDO ATIVIDADE PSICODÉLICA DA SUBSTÂNCIA 25H-NBOME

O HTR, de maneira confiável, é um comportamento que permite distinguir, através de agonistas do receptor 5-HT_{2A}, alucinógenos de não alucinógenos. De forma que ele atua como um mediador entre o comportamento de roedores aos efeitos alucinógenos em humanos (GONZÁLEZ-MAESO *et al.*, 2007; HALBERSTADT; GEYER, 2013; HALBERSTADT *et al.*, 2020). Assim, o LSD induz HTR em camundongos e ratos, enquanto a lisurida (substância não alucinógena) não induz

esse comportamento, apesar de atuar como um agonista do receptor 5-HT 2A (GONZÁLEZ-MAESO *et al.*, 2007).

Assim, avaliamos se a substância 25H-NBOMe causava efeito alucinógeno nos animais. Com o teste de HTR, que avalia a atividade alucinógena através de receptores 5-HT2A (NICHOLS, 2016), observamos se havia resposta de contração da cabeça nas fêmeas lactantes e não lactantes. É possível observar com os nossos resultados que os animais lactantes, que receberam as doses de tratamento (3,0mg/kg e 1,0mg/kg), faziam mais HTR em comparação com o grupo controle e o número de contrações da cabeça aumentavam conforme o tempo corrido. Corroborando com Halberstadt (2020), Custódio (2020) e Herian (2021) e colaboradores que analisaram se substâncias análogas de NBOMe (25D-NBOMe, 25B-NBOMe e 25I- NBOMe, respectivamente) apresentavam atividade alucinógena. Nesses estudos constatou-se que os animais que foram tratados com análogos serotoninérgicos de NBOMe fazem movimentos de contração da cabeça.

Avaliamos também, através do teste de campo aberto, a capacidade locomotora e exploratória das fêmeas lactantes sob efeito da substância alucinógena 20 minutos após aplicação do tratamento. Constatamos que não houve diferença estatística entre os grupos controle e tratamentos. Corroborando com Herian e colaboradores (2021) que quando administraram dose única do tratamento com 25I-NBOMe não houve efeito na capacidade locomotora e exploratória dos animais. Em contrapartida, esses mesmos autores, encontraram diminuição na capacidade locomotora quando os animais receberam doses repetidas, reforçando esse mesmo resultado com Wojtas e colaboradores (2021) que também encontraram diminuição do tempo de caminhada dos animais tratados com 25B-NBOMe de forma dependente da dose administrada. Em ambos experimentos citados, o teste foi realizado com animais machos. Assim, o nosso resultado no teste de campo aberto, apesar de sugerir que uma única dose de tratamento não há alteração na capacidade locomotora e exploratória dos animais, nos permite recomendar estudos com fêmeas e com doses de tratamento repetidas, uma vez que não se encontra na literatura estudos de campo aberto com o animal do sexo feminino para melhor discutirmos esses achados.

Realizamos testes semelhantes em fêmeas não lactantes, porém em fase do ciclo estral semelhante a fase de lactação (diestro), para averiguar se havia a mesma resposta pós aplicação da substância alucinógena. Constatamos que o resultado foi

semelhante aos das fêmeas lactantes: os grupos tratados com 25H-NBOMe nas doses de 0,3mg/kg e 1,0mg/kg apresentaram movimentos de contração da cabeça (HTR) e no teste de campo aberto não houve diferença estatística entre os grupos tratamento e controle. Sugerindo, dessa maneira, que as fêmeas não lactantes, em fase do ciclo estral (diestro) semelhante à fase de lactação, apresentam atividade psicodélica frente a administração da substância serotoninérgica NBOMe.

6.3 CONSEQUÊNCIAS PARA A PROLE DE FÊMEAS QUE FORAM TRATADAS COM 25H-NBOME EM DOSE ÚNICA, NO QUINTO DIA DE LACTAÇÃO

Nossa segunda incógnita foi avaliarmos se haveria alguma consequência para a prole após administração da substância psicodélica nas mães em período de lactação. Esperávamos que o efeito da administração da substância nas mães se manifestasse no comportamento relacionado a sociabilidade da prole durante o período pós-desmame (32º dia de vida). Para isto, no décimo dia pós-desmame, as ninhadas de todos os grupos de fêmeas avaliadas no comportamento materno foram submetidas a testes de socialização: teste de comportamento de brincar e teste de interação social em aparato de três câmaras.

No teste de comportamento de brincar, percebemos nos dois grupos de tratamento (0,3mg/kg e 1,0mg/kg) que a frequência de chamar o parceiro para brincar e o tempo total de brincar era reduzida comparado ao grupo controle e que o grupo do tratamento de 1,0mg/kg, tanto machos como fêmeas, ficaram mais tempo seguindo o parceiro.

No teste de interação social no aparato de três câmaras, nossos resultados não apresentam diferença estatística entre os grupos tratados. Sugerimos assim, que, ao introduzir o desconhecido 2 no teste, este não era tão desconhecido como esperado, mesmo nos animais controle. Observamos que as fêmeas apresentaram uma leve preferência pelo novo indivíduo apresentado no teste, enquanto os machos não manifestaram interesse, nem mesmo no grupo controle. No entanto, como nossa metodologia foi ininterrupta, não tivemos a oportunidade de explorar esses resultados em mais detalhes.

Com os nossos resultados, sugerimos também, que os dados encontrados nos dois testes comportamentais realizados com a prole estão baseados na ativação distinta de áreas cerebrais durante os testes: Vitor-Vieira e colaboradores (2021)

correlacionaram a ativação de áreas cerebrais com uma redução no comportamento do brincar da prole. Eles encontraram que o comportamento social prejudicado nesse teste está correlacionado com a hiperativação neuronal na amígdala. Cho e colaboradores (2017) identificaram que as áreas do cérebro no teste de interação social no aparato de três câmaras estão correlacionadas a ativação do córtex insular e córtex motor, da área tegmental ventral e do hipotálamo. Esses dados nos possibilitam elucidar que os nossos resultados devem-se a áreas cerebrais distintas ativadas durante os testes, divergindo assim, nos resultados obtidos, porquanto, todas as ninhadas são oriundas de fêmeas lactantes que não tiveram o comportamento materno alterado a longo prazo.

Os filhotes são altamente dependentes do cuidado materno, especialmente durante o período inicial de lactação. Nesse sentido, a qualidade do cuidado materno oferecido pela mãe é fundamental para determinar o comportamento do perfil. Estudos indicam que mudanças no comportamento materno durante essa fase podem afetar as respostas neuroendócrinas dos filhotes, com possíveis impactos ao longo de suas vidas (LI *et al.*, 2016; WOOD *et al.*, 2003; HELLSTROM *et al.*, 2012; CHAMPAGNE *et al.*, 2003; LIU *et al.*, 1997; CALDJI *et al.*, 1998). Logo, podemos inferir que a manutenção do cuidado materno estável durante a lactação favorece a relação mãe-filhote e contribui para o sucesso da prole na vida adulta.

Em síntese, diante do ineditismo deste trabalho, foi possível constatar que a substância psicodélica 25H-NBOMe prejudica o comportamento materno das ratas lactantes e afeta alguns aspectos do comportamento da prole.

7 CONCLUSÃO

Devido à escassez de estudos que nos permitam compreender o efeito da nova droga alucinógena 25H-NBOMe sobre o comportamento materno, em especial no período de lactação, este trabalho abre um leque de possibilidades para futuros estudos relacionados a esse tema.

Com os dados obtidos, concluímos que a substância 25H-NBOMe provoca efeito alucinógeno tanto em ratas lactantes como em não lactantes de forma similar. Nas lactantes, além do efeito psicodélico, houve comprometimento do comportamento materno imediato, após administração do tratamento, porém, não a longo prazo. Apesar de não interferir no CM contínuo, nem no ganho de peso da mãe e da prole, há redução no comportamento de brincar dos filhotes.

REFERÊNCIAS

- ASTLEY, S. J.; LITTLE, R. E. Maternal marijuana use during lactation and infant development at one year. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 12, n. 2, p. 161–168, 1990. doi.org/10.1016/0892-0362(90)90129-z.
- BARROS, W. A. *et al.* The new psychoactive substances 25H-NBOMe and 25H-NBOH induce abnormal development in the zebrafish embryo and interact in the DNA major groove. **Current Research in Toxicology**, v. 2, p. 386-398, 2021. doi:10.1016/j.crtox.2021.11.002.
- BATISTA, T. H.; GIUSTI-PAIVA, A.; VILELA, F. C. Maternal protein malnutrition induces autism-like symptoms in rat offspring. **Nutritional Neuroscience**, v. 22, n. 9, p. 655–663, 2019. doi:10.1080/1028415X.2018.1427660.
- BATISTA, T. H. *et al.* Maternal protein malnutrition prolongs sickness behavior in male offspring. **Journal of Neuroimmunology**, v. 341, p. 577169, 2020. doi:10.1016/j.jneuroim.2020.577169.
- BELLUSCIO, L. M. *et al.* Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. **Physiology and Behavior**, v. 129, p. 237–254, 2014. doi:10.1016/j.physbeh.2014.02.051.
- BIRKE, L.I.; SADLER, D. Differences in maternal behavior of rats and the sociosexual development of the offspring. **Developmental Psychobiology**, v. 20, n. 1. p. 85-99, 1987. doi:10.1002/dev.420200111.
- BOSCH, O. J.; NEUMANN, I. D. Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action. **Hormones and Behavior**, v. 61, n. 3, p. 293–303, 2012. doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.11.002.
- BRIDGES, R. S. Neuroendocrine regulation of maternal behavior. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 36, p. 178–196, 2015. doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.11.007.
- CALDJI, C. *et al.* Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. **Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America**, v. 95, n. 9, p. 5335–5340, 1998. doi.org/10.1073/pnas.95.9.5335.
- CAPONE, F.; BONSIGNORE, L.T.; CIRULLI, F. Methods in the analysis of maternal behavior in the rodent. **Current Protocols in Toxicology**, v. 13, n. 13.9, 2005. doi:10.1002/0471140856.tx1309s26.
- CHAGAS, L. A. *et al.* Anxiety-like behavior and neuroendocrine changes in offspring resulting from gestational post-traumatic stress disorder. **Behavioural Brain Research**, v. 399, p. 113026, 2021. doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113026.

CHAMPAGNE, F. A. *et al.* Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 22, p. 12736–12741, 2001. doi.org/10.1073/pnas.221224598.

CHAMPAGNE, F. A. *et al.* Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiology & Behavior**, v. 79, n. 3, p. 359–371, 2003. doi.org/10.1016/s0031-9384(03)00149-5.

CHEN, W. *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**, v. 117, p. 25-33, 2014. doi:10.1016/j.pbb.2013.11.034.

CHO, H. *et al.* Changes in brain metabolic connectivity underlie autistic-like social deficits in a rat model of autism spectrum disorder. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 13213, 2017. doi:10.1038/s41598-017-13642-3.

CONNOR, K.L. *et al.* Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 9, p. 2167–2180, 2012. doi:10.1113/jphysiol.2011.223305.

COSTA, H.H.; VILELA, F.C.; GIUSTI-PAIVA, A. Continuous central infusion of cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 decreases maternal care in lactating rats: consequences for fear conditioning in adulthood males. **Behavioural Brain Research**, v. 257, p. 31-38, 2013. doi:10.1016/j.bbr.2013.09.022.

CUSTODIO, R. J. P. *et al.* 25B-NBOMe, a novel N-2-methoxybenzyl-phenethylamine (NBOMe) derivative, may induce rewarding and reinforcing effects via a dopaminergic mechanism: Evidence of abuse potential. **Addiction Biology**, v. 25, n. 6, p. e12850, 2020. doi.org/10.1111/adb.12850.

CZARZASTA, K. *et al.* A rat model to study maternal depression during pregnancy and postpartum periods, its comorbidity with cardiovascular diseases and neurodevelopmental impact in the offspring. **Physiology & Behavior**, v. 199, p. 258–264, 2019. doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.11.024.

FANTEGROSSI, W.E.; MURNANE, K.S.; REISSIG, C.J. The behavioral pharmacology of hallucinogens. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 1, p. 17-33, 2008. doi:10.1016/j.bcp.2007.07.018.

FENG, M. *et al.* Effects of central activation of serotonin 5-HT_{2A/2C} or dopamine D_{2/3} receptors on the acute and repeated effects of clozapine in the conditioned avoidance response test. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 7, p. 1219-1230, 2015. doi: 10.1007/s00213-014-3756-2.

FRANCIS, D. *et al.* Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. **Science**, v. 286, n. 5442, p. 1155–1158, 1999.

GAO, J. *et al.* Activation of 5-HT_{2A} receptor disrupts rat maternal behavior. **Neuropharmacology**, v. 128, p. 96-105, 2018. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.09.037.

GONZÁLEZ-MAESO, J. *et al.* A. Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT (2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. **Neuron**, v. 53, n. 3, p. 439–452, 2007. doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.008.

HALBERSTADT, A. L. *et al.* Correlation between the potency of hallucinogens in the mouse head-twitch response assay and their behavioral and subjective effects in other species. **Neuropharmacology**, v. 167, p. 107933, 2020. doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107933.

HALBERSTADT, A. L.; GEYER, M. A. Characterization of the head-twitch response induced by hallucinogens in mice: detection of the behavior based on the dynamics of head movement. **Psychopharmacology**, v. 227, n. 4, p. 727–739, 2013. doi.org/10.1007/s00213-013-3006-z.

HALBERSTADT, A.L.; GEYER, M.A. Effect of Hallucinogens on Unconditioned Behavior. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 36, p. 159-199, 2018. doi:10.1007/7854_2016_466.

HELLSTROM, I. C. *et al.* Maternal licking regulates hippocampal glucocorticoid receptor transcription through a thyroid hormone-serotonin-NGFI-A signalling cascade. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, v. 367, n. 1601, p. 2495–2510, 2012. doi.org/10.1098/rstb.2012.0223.

HERIAN, M. *et al.* Tolerance to neurochemical and behavioral effects of the hallucinogen 25I-NBOMe. **Psychopharmacology**, v. 238, n. 8, p. 2349-2364, 2021. doi:10.1007/s00213-021-05860-5.

JASTER, A. M. *et al.* Effects of the 5-HT_{2A} receptor antagonist volinanserin on head-twitch response and intracranial self-stimulation depression induced by different structural classes of psychedelics in rodents. **Psychopharmacology**, v. 239, n. 6, p. 1665–1677, 2022. doi.org/10.1007/s00213-022-06092-x.

LAUBY, S. C.; FLEMING, A. S.; MCGOWAN, P. O. Beyond maternal care: The effects of extra-maternal influences within the maternal environment on offspring neurodevelopment and later-life behavior. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 127, p. 492–501, 2021. doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.04.021.

- LAWN, W. *et al.* The NBOMe hallucinogenic drug series: Patterns of use, characteristics of users and self-reported effects in a large international sample. **Journal of Psychopharmacology**, v. 28, n. 8. p. 780-788, 2014. doi:10.1177/0269881114523866.
- LEVY, F. Neuroendocrine control of maternal behavior in non-human and human mammals. **Annales D'Endocrinologie**, v. 77, n. 2. p. 114-125, 2016. doi:10.1016/j.ando.2016.04.002.
- LI, K. A., LUND, E. T., VOIGT, J. P. The impact of early postnatal environmental enrichment on maternal care and offspring behaviour following weaning. **Behavioural Processes**, v. 122, p. 51–58, 2016. doi: 10.1016/j.beproc.2015.11.008.
- LI, M. Antipsychotic drugs on maternal behavior in rats. **Behavioural Pharmacology**, v. 26, n. 6, p. 616-626, 2015. doi:10.1097/FBP.000000000000168.
- LI, M. *et al.* Distinct neural mechanisms underlying acute and repeated administration of antipsychotic drugs in rat avoidance conditioning. **Psychopharmacology**, v. 212, n. 1, p. 45-57, 2010. doi: 10.1007/s00213-010-1925-5.
- LI, M. *et al.* Effects of typical and atypical antipsychotic drugs on maternal behavior in postpartum female rats. **Schizophrenia Research**, v. 70, n. 1, p. 69-80, 2004. doi:10.1016/j.schres.2003.09.013.
- LI, M.; SUN, T.; MEAD, A. Clozapine, but not olanzapine, disrupts conditioned avoidance response in rats by antagonizing 5-HT_{2A/2C} receptors. **Journal of Neural Transmission**, v. 119, n. 4, p. 497-505, 2012. doi: 10.1007/s00702-011-0722-6.
- LI, X. *et al.* A behavioral mechanistic investigation of the role of 5-HT_{1A} receptors in the mediation of rat maternal behavior. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 169. p. 16-26, 2018. doi:10.1016/j.pbb.2018.04.002.
- LIN, S.H.; KIYOHARA, T.; SUN, B. Maternal behavior: activation of the central oxytocin receptor system in parturient rats? **Neuroreport**, v. 14, n. 11, p. 1439-1444, 2003. doi:10.1097/00001756-200308060-00007.
- LIU, D. *et al.* Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **Science**, v. 277, n. 5332, p. 1659–1662, 1997. doi.org/10.1126/science.277.5332.1659.
- LO, J. O.; HEDGES, J. C.; GIRARDI, G. Impact of cannabinoids on pregnancy, reproductive health, and offspring outcomes. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 227, n. 4, p. 571–581, 2022. doi.org/10.1016/j.ajog.2022.05.056.
- MANDUCA, A.; CAMPOLONGO, P.; TREZZA, V. Cannabinoid modulation of mother-infant interaction: is it just about milk? **Reviews in the Neurosciences**, v. 23, n. 5-6. p. 707-722, 2012. doi: 10.1515/revneuro-2012-0074.

- MARGATHO, L. O. *et al.* Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus in renal and hormonal responses to isotonic blood volume expansion. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 3, p. R1190-R1197, 2007. doi:10.1152/ajpregu.00351.2006.
- MILIANO, C. *et al.* Neurochemical and Behavioral Profiling in Male and Female Rats of the Psychedelic Agent 25I-NBOMe. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, p. 1406, 2019. doi: 10.3389/fphar.2019.01406.
- MORGANE, P. J. *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 17, n. 1, p. 91–128, 1993. doi:10.1016/s0149-7634(05)80234-9.
- MORINI, L. *et al.* Death after 25C-NBOMe and 25H-NBOMe consumption. **Forensic Science International**, v. 279, p. e1-e6, 2017. doi:10.1016/j.forsciint.2017.08.028.
- NICHOLS, D. E. Psychedelics. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 2, p. 264–355, 2016. doi:10.1124/pr.115.011478.
- NUMAN, M. Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. **Developmental Psychobiology**, v. 49, n. 1, p. 12–21, 2007. doi.org/10.1002/dev.20198.
- NUMAN, M. A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. **Acta Paediatrica**, v. 397, p.19–28, 1994. doi.org/10.1111/j.1651-2227.1994.tb13261.x.
- PAUL, S. E. *et al.* Associations Between Prenatal Cannabis Exposure and Childhood Outcomes: Results From the ABCD Study. **JAMA Psychiatry**, v. 78, n. 1, p. 64–76, 2021. doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.2902.
- PEDERSEN, C. A.; BOCCIA, M. L. Oxytocin antagonism alters rat dams' oral grooming and upright posturing over pups. **Physiology & Behavior**, v. 80, n. 2-3, p. 233–241, 2003. doi.org/10.1016/j.physbeh.2003.07.011.
- PEDERSEN, C. A.; PRANGE, A. J., JR. Induction of maternal behavior in virgin rats after intracerebroventricular administration of oxytocin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 76, n. 12, p. 6661–6665, 1979. doi.org/10.1073/pnas.76.12.6661.
- PEREZ, M.A. *et al.* Brain serotonin determines maternal behavior and offspring survival. **Genes, Brain, and Behavior**, v. 13, n. 7, p. 579-591, 2014. doi:10.1111/gbb.12159.
- PITTET, F. *et al.* Maternal social environment affects offspring cognition through behavioural and immune pathways in rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 31, n. 9, p. e12711, 2019. doi.org/10.1111/jne.12711.

POKLISN, J.L. *et al.* Analysis of 25I-NBOMe, 25B-NBOMe, 25C-NBOMe and Other Dimethoxyphenyl-N-[(2-Methoxyphenyl) Methyl] Ethanamine Derivatives on Blotter Paper. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 39, n. 8, p. 617-623, 2015. doi:10.1093/jat/bkv073.

POMPEIANO, M.; PALACIOS, J.M.; MENGOD, G. Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. **Molecular Brain Research**, v. 23, n. 1-2, p. 163-178, 1994. doi: 10.1016/0169-328x(94)90223-2.

REZAEI, S. *et al.* Opium Effect in Pregnancy on the Dynamics of Maternal Behavior: Testing a Neurochemical Model. **Neuropsychobiology**, v. 80, n. 2, p. 147-157, 2021. doi:10.1159/000512698.

ROSENBLATT, J.S. The physiological and evolutionary background of maternal responsiveness. **New Directions for Child Development**, n. 43, p. 15-30, 1989. doi:10.1002/cd.23219894304.

RYAN, S. A. *et al.* Marijuana Use During Pregnancy and Breastfeeding: Implications for Neonatal and Childhood Outcomes. **Pediatrics**, v. 142, n. 3, p. e20181889, 2018. doi.org/10.1542/peds.2018-1889.

SHAFI, A. *et al.* New psychoactive substances: a review and updates. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, v. 10, 2020. doi:10.1177/2045125320967197.

SHEEHAN, T. P. *et al.* Using c-Fos immunocytochemistry to identify forebrain regions that may inhibit maternal behavior in rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 114, n. 2, p. 337–352, 2000. doi.org/10.1037//0735-7044.114.2.337.

SIEGEL, H.I. Hormonal basis of maternal behavior in the rat. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 474, p. 202-215, 1986. doi:10.1111/j.1749-6632.1986.tb28012.x.

STARR-PHILLIPS, E. J.; BEERY, A. K. Natural variation in maternal care shapes adult social behavior in rats. **Developmental Psychobiology**, v. 56, n. 5, p. 1017–1026, 2014. doi.org/10.1002/dev.21182.

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 & Behavior**, v. 47, n. 5, p. 993–1011, 1990. doi.org/10.1016/0031-9384(90)90026-z.

SUZUKI, J. *et al.* Toxicities associated with NBOMe ingestion—a novel class of potent hallucinogens: a review of the literature. **Psychosomatics**, v. 56, n. 2, p. 129-139, 2015. doi:10.1016/j.psych.2014.11.002.

TIRRI, M. *et al.* Effect of -NBOMe compounds on sensorimotor, motor, and prepulse inhibition responses in mice in comparison with the 2C analogs and lysergic acid diethylamide: from preclinical evidence to forensic implication in driving under the influence of drugs. **Frontiers in Psychiatry**, v. 13, p. 875722, 2022. doi:10.3389/fpsy.2022.875722.

VERONESI, V. B. **Influência da dipirona sódica sobre as respostas comportamentais em camundongos fêmeas lactantes e a repercussão nos filhotes adolescentes**. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicada à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, 2016.

VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Cannabinoid receptor agonist disrupts behavioral and neuroendocrine responses during lactation. **Behavioural Brain Research**, v. 263, p. 190–197, 2014. doi.org/10.1016/j.bbr.2014.01.037.

VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Glucocorticoids disrupt neuroendocrine and behavioral responses during lactation. **Endocrinology**, v. 152, n. 12, p. 4838-4845, 2011. doi: 10.1210/en.2011-1096.

VITOR-VIEIRA, F.; VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Hyperactivation of the amygdala correlates with impaired social play behavior of prepubertal male rats in a maternal immune activation model. **Behavioural Brain Research**, v. 414, p. 113503, 2021. doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113503.

WAYHS, C.A.Y. *et al.* NBOMe: perfil de apreensões da Polícia Federal no Brasil. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 3, p. 22-29, 2016. dx.doi.org/10.15260/rbc.v5i3.136.

WOOD, D. M. *et al.* Prevalence of use and acute toxicity associated with the use of NBOMe drugs. **Clinical Toxicology**, v. 53, n. 2, p. 85-92, 2015. doi:10.3109/15563650.2015.1004179.

WOOD, S. L.; BEYER, B. K.; CAPPON, G. D. Species comparison of postnatal CNS development: functional measures. Birth defects research. Part B, **Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 68, n. 5, p. 391–407, 2003. doi.org/10.1002/bdrb.10037.

ZHAO, C.; LI, M. The receptor mechanisms underlying the disruptive effects of haloperidol and clozapine on rat maternal behavior: a double dissociation between dopamine D (2) and 5-HT (2A/2C) receptors. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 93, n. 4, p. 433-442, 2009. doi:10.1016/j.pbb.2009.06.005.

ZIMMERBERG, B.; GRAY, M.S. The effects of cocaine on maternal behaviors in the rat. **Physiology & Behavior**, v. 52, n. 2, p. 379-384, 1992. doi:10.1016/0031-9384(92)90287-c.

ZUBA, D.; SEKUŁA, K.; BUCZEK, A. 25C-NBOMe--new potent hallucinogenic substance identified on the drug market. **Forensic Science International**, v. 227, n. 1-3, p. 7-14, 2013. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.08.027.

ANEXO**Anexo A: Folha de Aprovação**

SEI/Unifal-MG - 1119107 - Folha de Aprovacao

https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento_impr...

LIDIA MARIA MELO

**EFEITO DA SUBSTÂNCIA PSICODÉLICA 25H-NBOME SOBRE O COMPORTAMENTO MATERNO E POSSÍVEIS
CONSEQUÊNCIAS PARA A PROLE**

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Fisiológicas

Aprovada em: 31 de outubro de 2023.

Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Profa. Dra. Heloisa Helena Vilela Costa
Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro
UFTM

Prof. Dr. Tayllon dos Anjos Garcia
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

