



## **Análise histopatológica do epitélio uterino de ratas wistar após 30 dias de tratamento com extrato etanólico de *Simarouba versicolor***

*Histopathology of the uterine epithelium of Wistar rats after 30 days of treatment with ethanol extract of *Simarouba versicolor**

**Marlene Sipaúba de Oliveira<sup>1</sup>\*, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>2</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>3</sup>, Kenney de Paiva Porfírio<sup>4</sup>, Estefane Kelly Dias Araújo<sup>5</sup>, Danilo de Sousa Lima<sup>6</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>3</sup>, Rozevterter Moreno Fernandes<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>Doutoranda do programa de pós-graduação em Ciência animal, Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Professora do departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>3</sup>Professores do departamento Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>4</sup>Mestrando do programa de pós-graduação em Ciência animal, Universidade Federal do Piauí; <sup>5</sup>Estudante de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>6</sup>Professor do departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>7</sup>Mestre em zootecnia e médico veterinário, Oeiras, PI, Brasil.

\*E-mail [peessoasipauba@yahoo.com.br](mailto:peessoasipauba@yahoo.com.br)

### **Abstract**

*Simarouba versicolor* belongs to Simaroubaceae family, it has been used in folk medicine and has extensive proven biological activity. However, histopatológicos studies in the reproductive organs are scarce. This study aimed to evaluate the effect of ethanol extract of *S. versicolor* (Sv-EtOH) at doses 10, 20, 40 mg / kg in the uterine epithelium after 30 days of treatment. After euthanasia, the uteri were removed, fixed in 10% buffered formalin. Followed by dehydration with alcohol (70-100%), cleared in xylene, subjected to impregnation and inclusion in paraffin. Cut thickness of 5.0  $\mu$ m and subsequently submitted to hematoxylin-eosin and examined under a microscope. The results showed eosinophilic inflammatory infiltrate of medium intensity reaching the muscle layer. The highest dose showed changes of the endometrium, epithelium with increased with 100% eosinophil infiltrate the lamina propria of moderately severe intensity and mucosal epithelial cell swelling.

**Keywords:** *Simarouba versicolor*, wistar rats, Histopathology.

**Palavras-chave:** *Simarouba versicolor*, ratas wistar, histopatológico.

### **Introdução**

A validação científica dos fitoterápicos é uma etapa inicial obrigatória para a utilização correta de plantas medicinais ou de seus compostos ativos. A total aceitação de drogas derivadas de plantas e a fitoterapia da medicina científica só ocorrerá se esses produtos cumprirem os mesmos critérios de eficácia, segurança e controle de qualidade que os produtos sintéticos (Rates, 2001). Os produtos derivados de plantas devem ter eficácia e segurança avaliadas e confirmadas, assim como deve ser garantida que sua administração a organismos vivos ocorra sem riscos para a saúde, por meio de estudos de toxicidade pré-clínica (Camurça-Vasconcelos et al., 2005; Hollenbach, 2008). Dentre essas plantas de uso popular destaca-se a *Simarouba versicolor*, da família Simaroubaceae, que é uma das plantas que tem sido usada na medicina popular, como espécie brasileira que tem propriedades semelhantes à Cáscara amarga (*Simarouba amara*) (Grieve, 2001). De fato, observa-se que plantas do gênero *Simarouba*, especialmente da espécie *S. versicolor*, possuem ampla atividade biológica comprovada. Entretanto, os estudos histopatológicos nos órgãos reprodutivos de animais que fazem o uso contínuo desta planta são escassos na literatura científica atual. Dentro desta perspectiva o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do extrato etanólico da *S. versicolor* no epitélio uterino durante 30 dias de tratamento.

### **Material e Métodos**

Foram utilizadas 32 ratas Wistar, fornecidos pelo Biotério de Manutenção de Animais destinados à Experimentação (BIOMADEx) do Laboratório de Ciências Fisiológicas do Departamento de Morfofisiologia Veterinária (DMV) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí. Os animais foram mantidos em gaiolas-padrão, a uma temperatura controlada ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ) com um ciclo de 12 h claro/escuro, tendo livre acesso à água e ração. Foram distribuídas em 4 grupos de 8 animais, tratadas uma vez ao dia por via oral, em horários fixos com o Sv-EtOH nas doses 10, 20, 40 mg/kg e um grupo controle. Após os procedimentos experimentais, os animais foram eutanasiados com sobredose de tiopental sódico (100 mg/kg, i.p.). Os úteros foram retirados, fixados em solução de formol tamponado a 10% para posterior processamento histopatológico. Fez-se a desidratação com séries crescentes de álcool (70 a 100%), diafanizadas em xilol, submetidas à impregnação e inclusão em parafina. Em micrótomo, os fragmentos tissulares foram cortados em espessura de 5,0  $\mu$ m e subsequentemente submetidos à coloração hematoxilina-eosina e examinados ao microscópio de luz (Bacha; Wood 1990).



## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos com a análise histopatológica do epitélio uterino dos animais tratados durante 30 dias demonstram infiltrado inflamatório eosinofílico de intensidade média atingindo a camada muscular (Tabela 1). No entanto, os animais tratados com 10 e 20 mg/kg do Sv-EtOH apresentaram 60% e 50%, respectivamente de infiltrado eosinofílico, sendo que a dose de 40 mg/kg induziu em 100% a formação do infiltrado eosinofílico da lâmina própria de intensidade moderadamente severa e tumefação de células do epitélio da mucosa. O conhecimento dos efeitos hormonais sobre o epitélio cervical ainda é limitado, Valente e Sasso (1992), estudando o colo uterino de ratas, observaram que a proporção de fibras colágenas e infiltrado de eosinófilos na lâmina própria era maiores na fase de estro (após pico hormonal de estrógeno) em comparação à diestro. Ramos et al. (2002) referem que os aspectos morfológicos uterinos estão diretamente relacionados aos níveis de receptores de estrógenos e de progesterona. No entanto, analisando os cortes histológicos dos úteros dos animais tratados, observamos que os animais tratados apresentaram epitélio cilíndrico simples, intensamente infiltrado por leucócitos no canal endocervical e epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado e alta concentração de eosinófilos. Há também um aumento acentuado dos epitélios. Os animais tratados com controle tanto no epitélio endocervical quanto o ectocervical pouco desenvolvido em relação aos tratados com Sv-EtOH. Os animais tratados com controle o epitélio cilíndrico simples apresentou pouca infiltração leucocitária e baixa concentração de eosinófilos e pouco desenvolvimento dos epitélios quando comparados com os animais tratados Sv-EtOH (10, 20, 40 mg/kg). A análise dos achados dos achados histológicos demonstrou que o endométrio foi afetado pelos tratamentos. No entanto os animais tratados com o extrato houve aumento dos epitélios uterinos, corroborando com o resultado da atividade antiestrogênica do Sv-EtOH. (Oliveira, 2016).

Tabela 1. Avaliação histopatológica dos animais tratado com Sv-EtOH durante o período de 30 dias, comparadas com o controle.

N	Grupos	Histopatologia do Útero	Percentual (%)
8	Controle (ad + DMSO)	Normal	100
8	Sv-EtOH 10 mg/kg	Infiltrado inflamatório eosinofílico da lâmina própria e camada muscular	41
8	Sv-EtOH 20 mg/kg	Infiltrado eosinofílico de intensidade moderada atingindo a camada muscular	45
8	Sv-EtOH 40 mg/kg	Infiltrado eosinofílico da lâmina própria de intensidade moderadamente severa e tumefação de células do epitélio da mucosa	100

Ad: água destilada; DMSO: dimetilsulfóxido.

## Conclusão

O Sv-EtOH com a maior dose demonstrou alteração do endométrio, com aumento dos epitélios com 100% de infiltrado eosinofílico da lâmina própria de intensidade moderadamente severa e tumefação de células do epitélio da mucosa, indicando que mais estudos voltados para reprodução deverão ser realizados com *Simarouba versicolor*.

## Referências

- Camurça-Vasconcelos ALF.** Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.7, n.3, p.97-106, 2005.
- Hollenbach CB.** Estudo da toxicidade reprodutiva de duas formulações fitoterápicas comerciais contendo Soja [*Glicine Max (L.) Merr*] em ratos wistar. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2008.
- Grieve MA.** Modern Herbal. Disponível em: <http://www.botanical.com/botanical/mgm/s/simaru50.html>. Acesso em: 10/07/2013.
- Oliveira MS, Fernandes MZLC, Mineiro ALBB, Santos RF, Viana GEN, Coelho JM, Ribeiro SM, Cunha APGP, Costa JF; Fernandes RM.** Toxicity effects of ethanol extract of *Simarouba versicolor* on reproductive parameters in female Wistar rats. African Journal of Biotechnology, v.15, pp.221-235, 2016.
- Ramos JG, Varayoud J, Bosquiazzo VL, Luque EHMunoz-de- Toro M.** Cellular turnover in the rat uterine cervix and its relationship to estrogen and progesterone receptor dynamics. **Biol Reprod** 202; 67:735-42, 2002.
- Rates SMK.** Plants as source of drugs. *Toxicon*, v.39, p.603-13, 2001.



## **Avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica promovida pelo extrato etanólico da *richeria grandis vahl. (phyllanthaceae)* em ratos**

*Richeria grandis Vahl. (Phyllanthaceae) ethanolic extract: androgenic and anti-androgenic activity evaluation in rats*

**Marina Carvalho Leite<sup>1</sup>, Muriel Alves Carvalho<sup>1</sup>, Mayara de Lima Moreno Fernandes<sup>1</sup>,  
Rozeverter Moreno Fernandes<sup>2</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>3</sup>,  
Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>4,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduados em Medicina Veterinária/ Universidade Federal do Piauí (UFPI); <sup>2</sup>Depto. Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias (CCA)/ UFPI; <sup>3</sup>Depto. de Clínica e Cirurgia Veterinária/ CCA/ UFPI; <sup>4</sup>Depto. Bioquímica e Farmacologia/ CCS/ UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: zenaidemoreno@gmail.com

### **Abstract**

*The Richeria grandis known is for its aphrodisiac properties and due to its wide empiric use well as the lack of gender Richeria studies the objective of this study was to evaluate the androgenic and anti-androgenic activity of this plant. They were used in this study 64 male Wistar rats, castrated, divided into eight groups. The groups for the study of androgen activity were treated with boiling water over corn R. grandis ethanolic extract oil at doses of 75, 150 and 300 mg / kg and groups of antiandrogenic activity received corn oil, distilled water and ethanol extract at doses of 75, 150 and 300 mg / kg associated with testosterone. It was found that the ethanol extract of R. grandis in the tested doses did not differ statistically from the negative and positive controls did not thus demonstrating androgenic activity or antiandrogenic.*

**Keywords:** *Richeria grandis, ethanolic extract, androgenic/antiandrogenic.*

**Palavras-chave:** *Richeria grandis, extrato etanólico, androgênica/anti-androgênica .*

### **Introdução**

A flora brasileira apresenta uma grande diversidade de espécies, estimativas apontam que os ecossistemas do Brasil compreendem 22% de todas as espécies biológicas do mundo, sendo que apenas a Floresta Amazônica constitui-se como reservatório de pelo menos 55 mil espécies de plantas, o que torna evidente a importância do Brasil quanto ao patrimônio de recursos biológicos (Marques,2000). As plantas medicinais se tornaram importante fonte de novos medicamentos. Mais de 70.000 espécies já foram catalogadas como detentoras de propriedades terapêuticas (Hawkins, 2008), sendo fontes de substâncias químicas essenciais para a humanidade.

Nesse contexto, a *Richeria grandis*, uma espécie vegetal pertencente à família *Phyllanthaceae*, comum em florestas de altitude em partes do Caribe e América do Sul (Strong,2012), conhecida pelas suas propriedades afrodisíacas (Winer,2009), mostrou-se uma espécie interessante para estudos que comprovem sua atividade androgênica e antiandrogênica em ratos Wistar castrados.

### **Material e Métodos**

A *Richeria grandis* foi coletada no Estado do Maranhão, no município de Timon a 05° 05' 39" S de latitude e 42° 50' 12" W de longitude, e identificada pelo Herbário Graziela Barroso da UFPI. O material botânico foi cortado e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar durante quatro dias a uma temperatura máxima de 45° C (±1). Após esta etapa, o material foi triturado em moinho de facas tipo Willis, obtendo-se um pó que foi acondicionado em um frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado e identificado, onde permaneceu até o momento do preparo dos extratos.

O extrato etanólico (EE) foi obtido colocando-se 500g da matéria vegetal em etanol PA, durante cinco dias em temperatura ambiente num processo de maceração a frio. A seguir foi filtrado e após quatro extrações sucessivas foi homogeneizado, e colocado no evaporador rotativo a 45° acoplado um banho termostatizado. Após este procedimento foi submetido a um processo de liofilização para retirar a água restante do extrato.

Para a realização da atividade androgênica e antiandrogênica, foram utilizados 64 ratos Wistar, divididos em 8 grupos com 8 animais(Quadro 1) A metodologia adotada foi de Hershberger et al. (1953), onde, preliminarmente os animais foram anestesiados com associação de cetamina (90 mg/kg, i.p.) e xilazina (2 mg/kg, i.p.) e em seguida submetidos a orquiectomia, sendo posteriormente deixados em repouso por 30 dias para completa recuperação do processo cirúrgico. Após este período foram tratados durante sete dias consecutivos com doses diferentes do EEtOH-RG 75,150 e 300 mg/kg. Após o tratamento foram eutanasiados com tiopental sódico 100 mg/k (IP). Em seguida próstata e vesículas seminais foram seccionados, pesadas e colocados em frascos com formalina tamponada (solução de formol a 10%).



Quadro 1. Distribuição de grupos experimentais para a avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica.

N	Grupos	Posologias (veículos)	Vias de administração
8	Controle Negativo (H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + o.m.)	10 mL/kg - H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 1 mL/kg - o.m.	v.o. + i.m.
8	EEtOH – RG 1 + o.m.	75 mg/kg + 1ml/Kg – o.m.	v.o. + i.m.
8	EEtOH – RG 2 + o.m.	150 mg/kg + 1ml/Kg – o.m.	v.o. + i.m.
8	EEtOH – RG 3 + o.m.	300 mg/kg + 1ml/Kg – o.m.	v.o. + i.m.
8	Controle Positivo (H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + T)	10 mL/kg - H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.
8	EEtOH – RG 1 + T	75 mg/kg + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.
8	EEtOH – RG 2 + T	150 mg/kg + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.
8	EEtOH – RG 3 + T	300 mg/kg + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.

Propionato de Testosterona (T); água destilada (H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>)-veículo de diluição do EEtOH-Cl; óleo de milho (o.m.)-veículo de diluição do Propionato de Testosterona; número de animais (n); via oral (v.o.); via intramuscular (i.m.).

## Resultados e Discussão

A avaliação da atividade androgênica dos grupos tratados apenas com o extrato etanólico da *Richeria grandis* nas doses de 75, 150 e 300 mg/kg associados ao óleo de milho não provocou alteração no peso absoluto dos órgãos vesícula seminal e próstata dos ratos Wistar castrados, em relação ao grupo Controle Negativo (Tab. 1).

Tabela 1. Resultado da atividade androgênica e antiandrogênica através da avaliação da massa da próstata e vesícula seminal de ratos tratados com EEtOH-RG, nas doses de 75,150 e 300mg/kg comparados com os grupos controle negativo (óleo de milho- 1ml/kg) e controle positivo (testosterona- 5000µg/kg).

Tratamentos	Massa corporal (g)	Próstata	Vesícula seminal
Controle Negativo	342,075 ± 38,305	0,021500 ± 0,009 <sup>a</sup>	0,069725 ± 0,010 <sup>a</sup>
EEtOH-RG 1+ o.m.	322,287 ± 37,268	0,030813 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,098075 ± 0,014 <sup>a</sup>
EEtOH-RG 2+ o.m.	337,725 ± 24,261	0,020950 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,086713 ± 0,031 <sup>a</sup>
EEtOH-RG 3+ o.m.	320,825 ± 25,523	0,021000 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,066338 ± 0,011 <sup>a</sup>
Controle Positivo	313,900 ± 11,488	0,216563 ± 0,028 <sup>b</sup>	0,800813 ± 0,109 <sup>b</sup>
EEtOH-RG 1+ T	346,525 ± 26,724	0,230075 ± 0,052 <sup>b</sup>	0,824400 ± 0,107 <sup>b</sup>
EEtOH-RG 2+ T	371,625 ± 25,748	0,270275 ± 0,036 <sup>b</sup>	1,028238 ± 0,221 <sup>b</sup>
EEtOH-RG 3+ T	345,475 ± 46,600	0,281488 ± 0,048 <sup>b</sup>	0,910163 ± 0,086 <sup>b</sup>

Os valores representam a média ± E.P.M. n= (8 animais/grupo). ANOVA One-way seguida do teste de Tuckey e teste de Newman-Keuls *in vitro* P < 0,05).

Por outro lado, no estudo da atividade antiandrogênica do grupo controle positivo e EEtOH-RG 1,2,3 associados a testosterona houve um aumento significativo da massa da vesícula seminal e da próstata dos animais quando comparados com o grupo controle negativo, caracterizando assim o efeito da testosterona.

## Conclusão

Concluiu-se que o extrato etanólico da *Richeria grandis* Vahl. (*Phyllanthaceae*), nas doses testadas não apresentou atividade androgênica e nem atividade antiandrogênica em ratos castrados, de acordo com a metodologia utilizada.

## Referências

- Hawkins B.** Plants for life: Medicinal plant conservation and botanic gardens. Botanic Gardens Conservation International, Richmond, UK, 2008.
- Hershberger L, Shipley E, Meyer R.** Myotrophic activity of 19-nortestosterone and other steroids determined by modified levator and muscle method. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, v.83, p.175-180, 1953.
- Marques MB. Patentes Farmacêuticas e acessibilidade aos medicamentos no Brasil. História, Ciências, Saúde – Manguinhos, v.7, 2000.
- Strong MT, Acevedo-Rodríguez, P. Catalogue of Seed Plants of the West Indies. Smithsonian Contributions to Botany 98. Washington, DC: Smithsonian Institution Scholarly Press, 2012.
- Winer L.** Dictionary of the English/Creole of Trinidad & Tobago: On Historical Principles. Montreal: McGill-Queen's University Press, 2009.



## **Avaliação da toxicidade gestacional do látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson em camundongos fêmeas Swiss e avaliação da progênie**

*Evaluation of gestational toxicity of latex of *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson in the female Swiss mice and evaluation of progeny*

**Emanuela Ribeiro Moura\***, Thays Garreto Rodrigues dos Santos, Matheus Luigi Freitas Barbosa, Camila Ernanda Sousa de Carvalho, Silvéria Regina de Sousa Lira, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes, Rozevterter Moreno Fernandes, Amilton Paulo Raposo Costa

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: emanuelaribeiro89@hotmail.com

### **Abstract**

*It aimed to investigate the possible effects of the oral administration of the latex diluted of *H. sucuuba* (LdHs) on pregnancy in the female Swiss mice and evaluation of progeny. We used 54 female mice pregnant women in the evaluation protocol gestational toxicity and progeny. Females received the LdHs by gavage during 8th to 12th day of gestation and during late pregnancy were euthanized for the observation of gestational parameters and evaluation of the fetuses. None of LdHs doses interfered negatively on gestational parameters investigated or ossification of fetuses, and also did not cause visceral malformations in the offspring. Therefore, the tested doses of LdHs did not cause gestational toxicity in female mice as well as did not interfere in the progeny.*

**Keywords:** *janaguba, pregnancy, medicinal plants.*

**Palavras-chave:** janaguba, gestação, plantas medicinais

### **Introdução**

Dentre a tradição de uso das plantas como medicinal, tem-se a *H. sucuuba*, que pertence à família *Apocynaceae*, e é uma espécie vegetal encontrada na América do Sul e popularmente conhecida como sucuba, sucuba ou janaguba. Na região norte do Brasil, seu látex é muito difundido na medicina popular e é utilizado como fungicida, antianêmico e principalmente como antineoplásico (Barreto et al., 2007). No entanto, seu uso popular é indiscriminado pois não há pesquisas que comprovem a sua não toxicidade gestacional. Portanto, objetivou-se investigar os possíveis efeitos provocados pela administração oral do látex diluído de *H. sucuuba* (LdHs) sobre a gestação em camundongos fêmeas Swiss e avaliação da progênie.

### **Material e Métodos**

O látex de *H. sucuuba* foi coletado na zona rural de Timon-Ma. A espécie foi identificada e depositada sua exsiccata no acervo do Herbário Graziela Barroso (TEPB/UFPI). O látex coletado foi diluído a uma concentração de 40 mg/ml. Foram utilizados 54 camundongos fêmeas gestantes distribuídas aleatoriamente em 4 grupos experimentais. Os animais do grupo controle receberam água destilada e três grupos de animais receberam por via gavagem o LdHs, nas doses 25, 50 e 100 mg/kg, do 8º ao 12º dia de gestação, período de organogênese da espécie. No 18º dia de gestação os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos (Tiopental sódico 100mg/kg + mesmo volume de lidocaína a 10%) e em seguida, foi realizada a laparotomia. O útero com fetos foi removido e pesado. O conteúdo uterino das fêmeas foi analisado, verificando-se o peso fetal, placentário, útero gravídico e do útero vazio, quantidade de filhotes e de placentas. Desse modo, foi calculado o índice placentário (peso placentário/ peso fetal). Após pesagem dos fetos, eles foram eutanasiados por inalação de isofluorano. Após a eutanásia, metade dos fetos foi submetida à técnica de *Alizarina red* para a realização da análise esquelética através da verificação dos pontos de ossificação em microscópio estereoscópico (Fig. 1). A outra metade dos fetos foi fixada na mistura de Bodian para a análise visceral em que foi conduzida através da combinação de cortes/microdissecação (Fig. 2a) e visualizados em microscópio estereoscópico, para observação de possíveis alterações viscerais (Fig. 2b) (Laura, 2009). Este estudo foi aprovado pela CEEA/UFPI com parecer nº 094/2014.

### **Resultados e Discussão**

Nenhuma das doses testadas de LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) interferiu negativamente nos parâmetros gestacionais de camundongos fêmeas que foram tratadas durante o 8º ao 12º dia de gestação. Na análise esquelética da prole das fêmeas dos grupos tratados com LdHs, não foi observada malformação esquelética significativa nos fetos quando comparados com a avaliação do esqueleto dos fetos gerados pelas ratas do grupo controle (água destilada). Essa análise foi realizada através da verificação dos pontos de ossificação em 56 fetos do grupo controle, 66 fetos do grupo 25 mg/kg, 55 fetos do grupo 50 mg/kg e 60 fetos do grupo 100 mg/kg. Na análise visceral também não foi observada nenhuma alteração significativa dos órgãos analisados dos fetos, cujas progenitoras foram tratadas com LdHs quando comparados com a análise visceral dos fetos gerados pelas ratas do grupo controle (água destilada). Essa análise foi realizada através de cortes/microdissecações em 63 fetos do grupo controle, 70 fetos do grupo 25 mg/kg, 62 fetos do grupo 50 mg/kg e 67 fetos do grupo 100 mg/kg.

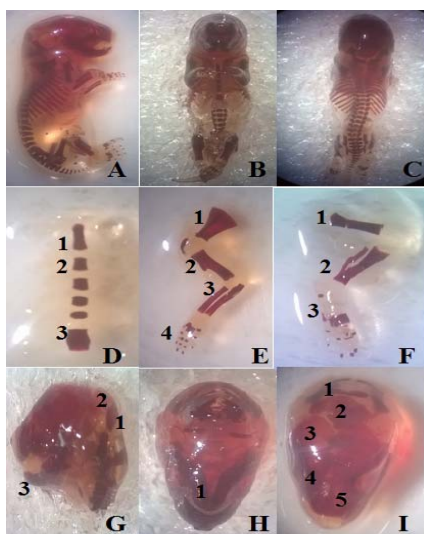


Figura 1. Pontos de ossificação normal de feto referente ao grupo controle tratadas com água destilada durante o 8º dia ao 12º de gestação. Nota: a) Vista lateral; b) Vista ventral; c) Vista dorsal; d) Esterno: 1- Manúbrio, 2- Centros esternais (Esternébras), 3- Processo xifoide; e) Membro anterior: 1- Escápula, 2- Úmero, 3- Rádio e ulna, 4- Carpos, metacarpos e falanges; f) 1- Fêmur, 2- Tibia e fibula, 3- Tarsos, metatarsos e falanges; g) Vista lateral crânio: 1- Supraoccipital, 2- Interparietal, 3- mandíbula; h) Vista ventral crânio: 1- Mandíbula; i) Vista dorsal crânio: 1- Supraoccipital, 2- Interparietal, 3- Parietal, 4- Frontal, 5- Nasal.

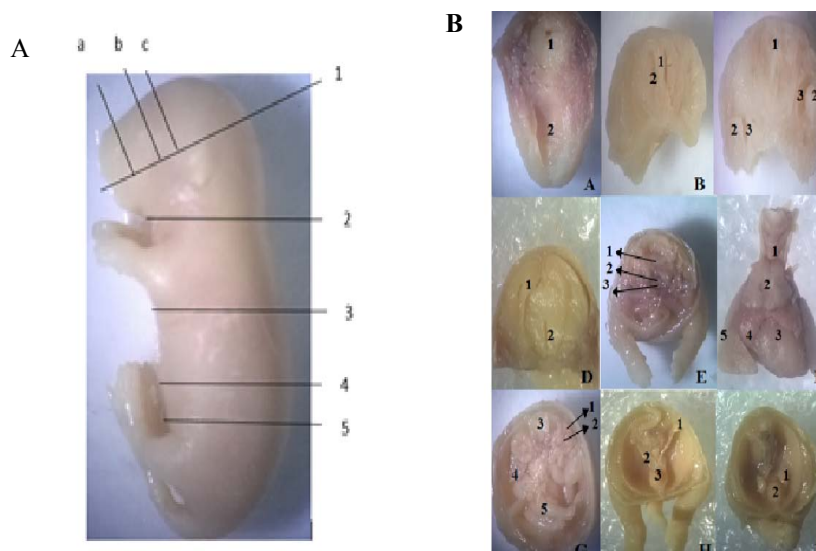


Figura 2. – a) Relação e localização de cortes utilizados durante a análise visceral para o estudo de malformações viscerais. Nota: 1- Corte transversal na altura da cavidade oral; 2- Corte transversal na região do pescoço; 3- Corte transversal na região do terço médio torácico; 4- Corte transversal na região abdominal inferior; 5 - Corte transversal na região pélvica; a- Corte frontal na região pré-gabelar; b- Corte frontal na região orbital; c- Corte frontal na região da vértex. b) Sequência de cortes para estudo visceral em feto do grupo controle. Nota: a) Corte transversal na altura da cavidade oral: 1- Palato, 2- Cérebro; b) Corte frontal na região pré-gabelar: 1- Septo nasal; 2- Coana; c) Corte frontal na região orbital: 1- Cérebro; 2- Cristalino; 3- Retina; d) Corte frontal na região do vértex: 1- Ventriculo lateral, 2- terceiro Ventriculo, 3- Hemisfério cerebral; e) Corte transversal na região de pescoço: 1- Medula espinhal, 2- esôfago, 3- Traquéia; f) Corte transversal na região do terço médio torácico: 1- Traquéia, 2- Timo, 3- Coração, 4- Aurícula direita, 5- Pulmão; g) Corte transversal na região abdominal inferior: 1- Rim, 2- Pelve renal, 3- Medula espinhal, 4- Fígado, 5- Alças intestinais; h) Corte transversal na região pélvica de uma fêmea: 1- Ovários, 2- Cornos uterinos, 3- Bexiga; i) Corte transversal na região pélvica de um macho: 1- Testículos, 2- Bexiga.

### Conclusão

As doses testadas de LdHs não provocou toxicidade gestacional em camundongos fêmeas assim como não interferiu na progênie.

### Agradecimento

Ao Herbário Graziela Barroso (TEPB) da Universidade Federal do Piauí por identificar a espécie botânica utilizada nesta pesquisa.

### Referências

- Barreto AS, Amaral ACF, Silva JRA, Schripsema J.** Ácido 15-desmetiloplumierídeo, um novo iridóide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himantanthus succuba*. *Química Nova*, v.30, n.5, p.1133-1135, 2007.
- Laura ALC.** Efeitos da ingestão de extrato hidroacetônico de *Maytenus ilicifolia* e hidroetanólico de *Achyrocline alata* em ratas prenhes e seus fetos. 2009. 196f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.



## **Avaliação do ciclo estral e da toxicidade sistêmica do látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson em ratas Wistar**

*The estrous cycle evaluation and systemic toxicity in the latex of Himatanthus sucuuba (Spruce) Woodson in Wistar rats*

**Emanuela Ribeiro Moura\***, Thays Garreto Rodrigues dos Santos, Camila Ernanda Sousa de Carvalho, Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva, Jamylla Mirck Guerra de Oliveira, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes, Rozeverter Moreno Fernandes, Amilton Paulo Raposo Costa

Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: emanuelaribeiro89@hotmail.com

### **Abstract**

*It aimed to investigate the possible effects induced by the diluted latex oral administration of *H. sucuuba* (LdHs) in Wistar rats on the estrous cycle and other organ systems. The Wistar rats received by gavage the LdHs. The results showed that there was a decrease in average daily intake and ponderable development negative interference in the group treated with the dose 100 mg / kg. The number of primary follicles and in the dose 100 mg / kg LdHs was superior to the control group. It was also observed a decrease in the number of estrous cycles and an increase in the average duration of the estrous cycle in this group. Therefore, doses 25 and 50 mg / kg of LdHs have been shown safe, however the dose 100 mg / kg decreased reproductive efficiency and promoted a low systemic toxicity as caused a decrease in feed consumption and interfered with the ponderable development.*

**Keywords:** *janaguba, reproductive toxicity, medicinal plants.*

**Palavras-chave:** janaguba, toxicidade reprodutiva, plantas medicinais.

### **Introdução**

A utilização da *Himatanthus sucuuba* pela população para o tratamento de diversas enfermidades propiciou o emprego desse material em pesquisas científicas. A *H. sucuuba*, que pertence à família *Apocynaceae*, é uma espécie vegetal encontrada na América do Sul e popularmente conhecida como sucuba, sucuba ou janaguba. Seu látex é utilizado popularmente como anti-inflamatório, analgésico, antitumoral, antiulceroso e tuberculostático (Oliveira, 2013). No entanto, seu uso é indiscriminado pois não há pesquisas na área da toxicologia reprodutiva que indique que sua utilização seja segura. Portanto, objetivou-se investigar os possíveis efeitos induzidos pela administração oral do látex diluído de *H. sucuuba* em ratas Wistar sobre o ciclo estral e outros sistemas orgânicos.

### **Material e Métodos**

O látex de *H. sucuuba* foi coletado na zona rural de Timon-Ma e em seguida foi identificada e depositada sua exsiccata no acervo do Herbário Graziela Barroso (TEPB/UFPI). O látex coletado foi diluído a uma concentração de 40 mg/ml. Foram utilizadas 28 ratas linhagem Wistar, 180 a 250 gramas, que foram distribuídos ao acaso em 4 grupos (n=6 a 8) sendo o grupo controle tratado com água destilada e três grupos tratados nas doses 25, 50 e 100 mg/kg do látex diluído de *H. sucuuba* (LdHs) por 46 dias seguidos. Diariamente as ratas foram submetidas a citologia vaginal para constatação da fase do ciclo de acordo com Marcondes; Bianchi e Tanno (2002). Assim, foi estimado a frequência relativa das fases do ciclo estral e a duração média do ciclo estral. Concomitantemente, avaliaram-se os seguintes parâmetros: massa corporal (g), consumo diário de ração (g) e consumo de água (mL). Ao final do tratamento, as ratas foram anestesiadas com Cetamina e Xilazina e procedida a coleta de sangue por meio de punção cardíaca para avaliação dos parâmetros bioquímicos. Em seguida, foram eutanasiadas por sobredose de anestésico (Tiopental sódico) para coleta, pesagem e avaliação dos órgãos (coração, pulmão, baço, fígado, rins, adrenais, ovários e útero). Prepararam-se os segmentos desses órgãos para processamento histopatológico. Foi utilizada Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Dunnett ( $P < 0,05$ ) analisado pelo GraphPad Prism® 5.03 e os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão médio (EPM). Este estudo foi aprovado pela CEEA/UFPI com parecer nº 094/2014.

### **Resultados e Discussão**

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram uma diminuição no número de ciclos estrais e um aumento na duração média do ciclo estral nos animais tratados com a dose 100 mg/kg de LdHs (Fig. 1), sem afetar a frequência relativa das fases, em nenhuma das doses testadas. Esse resultado pode ser devido a uma redução do crescimento folicular, observado pelo aumento do número de folículos primários (Tab. 2), segundo a análise histológica, e pode ser consequência da alteração nutricional observado na redução do apetite e do desenvolvimento ponderal (Bisinotto et al., 2012). Houve uma diminuição no consumo diário de ração (Tab. 1) e uma interferência negativa no desenvolvimento ponderal das ratas tratadas 100 mg/kg (Fig. 2). Também houve um aumento no consumo diário de água no grupo 50 mg/kg (Tab. 1), entretanto, a evolução ponderal das ratas tratadas com essa dose foi superior ao grupo controle (Fig. 2). Em geral, mortes, redução no ganho de peso corporal e alteração na ingestão de alimentos e água são índices simples, porém, sensíveis de toxicidade após

exposição a substâncias tóxicas (Volpato et al, 2015). A diminuição do consumo de ração pelo grupo tratado com a maior dose de LdHs, por 46 dias, gerou uma diferença significativa na evolução ponderal desses animais que pode ser consequência de substâncias ativas presentes no LdHs que promovem a alteração do apetite. A toxicidade sistêmica de determinada substância pode se manifestar por alteração do peso corporal e da massa relativa dos órgãos, assim como, por alterações hematológicas e bioquímicas sanguíneas (Pires Jr et al., 2012 e Silva et al, 2016). O tratamento com diferentes doses de LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias, não alterou os parâmetros bioquímicos (uréia, creatinina e fosfatase alcalina) nem os pesos absolutos e relativos dos órgãos fígado, rim, baço, útero, ovário, coração, pulmão e adrenais. A ausência de alterações nos parâmetros fisiológicos avaliados enfatiza a baixa toxicidade do LdHs nas doses testadas. A análise histológica dos tecidos demonstrou características semelhantes entre os grupos testados.

Tabela 1. Consumo diário individual de ração e de água de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.

	Consumo diário de ração (g)	Consumo diário de água (mL)
Controle n=8	14,7 ± 0,301	27,3 ± 0,570
25 mg/kg n=7	14,3 ± 0,377	27,0 ± 1,15
50 mg/kg n=7	14,8 ± 0,400	31,4 ± 0,938*
100mg/kg n=6	13,2 ± 0,422*	24,9 ± 0,797

Nota: \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

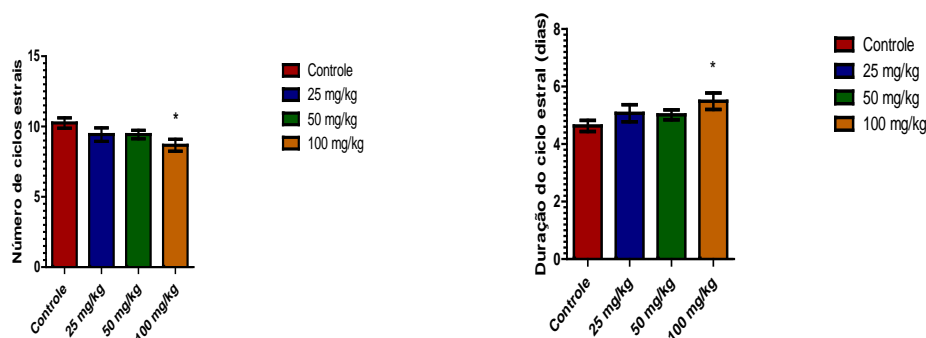


Figura 1. Número de ciclos estrais (A) e duração do ciclo estral (B) de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias. NOTA: N= 8 a 6; \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

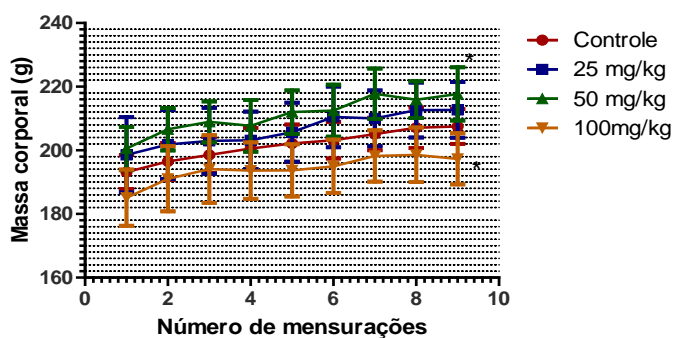


Figura 2. Evolução ponderal das ratas expostas ao tratamento com diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) e água destilada (controle) durante 46 dias. NOTA: N= 8 a 6; \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Tabela 2. Número médio de folículos ovarianos e corpo lúteo de ratas submetidas aos tratamentos com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.

	Controle (n=8)	25 mg/kg (n=7)	50 mg/kg (n=7)	100 mg/kg (n=6)
Folículo primordial	3,83 ± 0,601	3,71 ± 0,747	4,17 ± 1,19	4,83 ± 0,872
Folículo primário	3,83 ± 0,477	4,14 ± 0,884	6,17 ± 0,872	6,83 ± 0,654*
Folículo secundário	5,83 ± 0,477	6,57 ± 0,841	6,67 ± 0,667	6,83 ± 0,946
Folículo terciário	1,33 ± 0,494	0,857 ± 0,340	1 ± 0	1 ± 0,258
Folículo degenerado	1,83 ± 0,401	2,71 ± 0,522	1,83 ± 0,477	2,67 ± 0,494
Corpo lúteo	4,33 ± 0,615	5,71 ± 0,421	4,67 ± 0,919	3,83 ± 0,307

NOTA: \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.





### Conclusão

As doses 25 e 50 mg/kg de LdHs se revelaram seguras, entretanto a dose 100 mg/kg diminuiu a eficiência reprodutiva e promoveu uma baixa toxicidade sistêmica pois causou uma diminuição no consumo de ração e interferiu no desenvolvimento ponderal.

### Referências

**Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Martínez N, Lima FS, Staples CR, Thatcher WW, Santos JEP.** Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Anim Reprod*, v.9, p.260-272, 2012.

**Oliveira AA.** Análise fitoquímica dos extratos e frações obtidos de *Himatanthus sucuuba*, 2013. 93f. Dissertação (Mestrado)- UFA, Manaus, 2013.

**Pires JR HB, Borges LMF, Sousa LAD de, Cunha LC, Lino Jr R de S, Melo DF dos A, Pereira ME.** Avaliação da toxicidade aguda do extrato hexânico de frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) em camundongos. *Ciência Animal Brasileira*, v.13, n.4, p.512-519, 2012.

**Silva SL, Nascimento AA do, Ribeiro EFB, Ribeiro RB, Alves CM, Santos AM dos, Mira Neto R de A.** Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). *Acta Amazonica*, v.46, n.1, p.73-80, 2016.

**Volpato GT, Francia-Farje LA, Damasceno DC, Oliveira RV, Hiruma-Lima CA, Kempinas WG.** Effect of essential oil from *Citrus aurantium* in maternal reproductive outcome and fetal anomaly frequency in rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v.87, n.1, p.407-415, 2015.



## Efeito do extrato etanólico de *Simarouba versicolor* em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embriofetal

*Effect of ethanol extract of Simarouba versicolor in reproductive patterns of mice and embryo development*

Ana Paula Gomes Pereira Cunha<sup>1</sup>, Ykro Talvanis Duarte Cavalcante<sup>1</sup>, Moema Sousa de Oliveira<sup>2</sup>, Rozeverter Moreno Fernandes<sup>3</sup>, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>Graduados em Med. Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Doutoranda em Ciência Animal- CCA/UFPI; <sup>3</sup>Docente no Departamento de Morfofisiologia Veterinária-CCA/UFPI; <sup>4</sup>Docente no Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de ciências da Saúde, UFPI, Teresina, PI, Brasil>

\*E-mail: zenaidemoreno@gmail.com

### Abstract

*Simarouba versicolor* has several proven biological activities, however little is known regarding effects on reproduction, so this study evaluated the effect of the ethanol extract of *S. versicolor* (EOH-Sv) embryofetal development. It used to females pregnant randomly assigned into three groups receiving the extract of *S. versicolor* in doses of 5mg, 10mg and 20mg and a control group (-) received DMSO (3%) from the 8th to 12th day of gestation. The half of the fetuses was set at Bodian for visceral analysis, while the other half fixed in formalin (5%) and subjected to alizarin red technique. The EOH-Sv at doses of 20 and 10mg caused abortion and death of the females and the dose of 5mg/kg was able to reduce the number of live fetuses compared to controls, there was an increase in the loss rate after implantation (46,03%) even with 90% of implantation. Thus EOH-Sv demonstrated maternal and fetal gestational toxicity.

**Keywords:** *Simarouba versicolor*, reproductive toxicity, ethanol extract.

**Palavras-chave:** *Simarouba versicolor*, toxicidade reprodutiva, extrato etanólico.

### Introdução

Entre as plantas de uso popular destaca-se a *Simarouba versicolor*, também conhecida como pau-paraíba, pertencente à família *Simaroubaceae*, a qual compreende 28 gêneros com 25 espécies. Plantas do gênero *Simarouba*, especialmente da espécie *S. versicolor*, possuem várias atividades biológicas comprovadas. Entretanto, os estudos de sua influência sobre a reprodução dos mamíferos são escassos na literatura científica atual, o que mostra a importância do desenvolvimento de projetos científicos nesta área. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade gestacional e embriofetal do extrato etanólico da *S. versicolor*.

### Materiais e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Ciências Fisiológicas/DMV/CCA e Biotério Experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí - BIOMADEX.. A metodologia desenvolvida foi submetida ao Comitê de Ética e Experimentação Animal sob o protocolo nº 029/14.

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*), fêmeas adultas, da linhagem Swiss. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno tendo disponível água e ração *ad libitum*, em regime de luminosidade e temperatura controlada (ciclo de 12 horas claro/escuro, a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ). As fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos experimentais, cada um contendo 5-8 animais. Três grupos de animais receberam via gavagem o extrato de *S. versicolor* do 8º ao 12º dia de gestação, período de organogênese da espécie. Cada grupo recebeu:

Grupo 1: 5 mg kg<sup>-1</sup> (p.c)

Grupo 2: 10 mg kg<sup>-1</sup> (p.c)

Grupo 3: 20 mg kg<sup>-1</sup> (p.c)

Grupo 4: Controle negativo (DMSO a 3%, veículo) 0,1 ml/10g (p.c)

As fêmeas foram acasaladas e observadas diariamente verificando-se a presença do “plug” vaginal e através de esfregaço vaginal onde a presença de espermatozoides indicava o dia zero de prenhez. Avaliou-se o ganho de peso materno pesando-se as fêmeas durante os quatro dias de tratamento. No 18º dia fez-se a eutanásia por deslocamento cervical após administração de quetamina + xilazina, em seguida fez-se laparotomia. O útero com fetos foi pesado e o conteúdo uterino foi analisado, verificando-se a presença de reabsorções, número de fetos vivos e mortos, peso fetal e placentário, comprimento fetal e sob microscópio estereoscópio fez-se a análise sistemática para detecção de possíveis malformações estruturais externas. O número de sítios de implantação determinou-se pelo método de Salewski (1964). Com estes dados calculou-se a taxa de perdas pós-implantação e taxa de viabilidade fetal. A adequação do peso fetal à idade de prenhez foi determinada baseando-se no método estabelecido por Calderon (1992). Os fetos presentes na faixa entre a média do controle, mais ou menos o desvio padrão, vezes o fator de correção, foram considerados peso adequado para idade de prenhez (AIP). Aqueles que se encontram abaixo dessa faixa são os fetos com peso inferior ao peso adequado à idade de prenhez (PIP). Aqueles com peso superior a essa faixa serão considerados fetos com peso acima do peso adequado para a idade

de prenhez (GIP). Após pesados metade dos fetos foi fixado na mistura de Bodian para a análise visceral, enquanto a outra metade fixada em formalina (5%) e submetida à técnica de *Alizarina red* descrita por Staples; Snell (1964), para a realização da análise esquelética.

A análise visceral foi conduzida através da combinação de cortes/microdissecação proposta por Barrow; Taylor (1969) para estudo de tórax e abdome e pelos cortes estratégicos propostos por Wilson (1965) para estudo da cabeça. Os fetos submetidos à análise esquelética foram avaliados para detecção de anomalias de crânio, esterno, vértebras, costelas, bacia, clavícula, falanges, metacarpo e metatarso segundo o método de Taylor (1986).

Os dados absolutos com distribuição normal foram analisados pela ANOVA (Análise de Variância) complementada com o teste de Tukey ou através do teste t de Student os com distribuição não-normal serão analisados por Kruskal-Wallis, complementado com o teste de Dunn ou pelo teste Mann-Whitney e o nível de significância considerado foi de 5%.

### Resultados e Discussão

A tabela 1 demonstra que o extrato etanólico da *S. versicolor* na menor dose (5mg/kg) foi capaz de diminuir o número de fetos vivos quando comparados ao controle, observa-se também que um aumento na taxa de perdas no pós-implante (46,03%), embora tenha havido uma taxa de implantação de 90%. Resultado este que contribuiu para a diminuição na taxa de viabilidade fetal que no controle foi de 93,75%, enquanto que no grupo tratado foi de 53,96% (Tabela 1). Outros resultados deste estudo indicam que o EOH-Sv apresenta toxicidade sistêmica, pois as doses de 20 e 10mg causaram aborto e a morte das fêmeas, este evento ocorreu no segundo dia de administração, e período estudado, apresentou intensa toxicidade materna, as concentrações o que deixa claro que seu uso não é seguro durante o período gestacional. Resultados que diferem dos encontrados por Lourenço et al. (2009), em que a planta testada não apresentou alterações nos parâmetros de toxicidade materna.

Tabela 1. Índices reprodutivos das progenitoras tratadas por via oral com EOH-Sv (5mg/kg), no período de organogênese.

Índices reprodutivos	Controle n (5)	EOH-Sv 5mg/kg N (7)
Nº de implantações	9,6 ± 2,32	9,0 ± 0,86
Corpo lúteo	10,2 ± 2,32	10 ± 1,14
Reabsorção	0,6 ± 0,48	0,84 ± 0,73
Nº fetos vivos	9,0 ± 2,00	4,86 ± 3,31
Tx perdas pós-implante (%)	6,25	46,03
Tx eficiência na implantação (%)	76,47	90,0
Tx de viabilidade fetal (%)	93,75	53,96

No entanto, o EOH-Sv não foi capaz de causar alterações na prole das fêmeas tratadas submetida a análise com alizarina red e bodian, uma vez que esta não apresentou malformações ou alterações externas, viscerais e esqueléticas. No entanto, alguns fetos ao serem recuperados apresentavam-se liquefeitos (Figura 1).

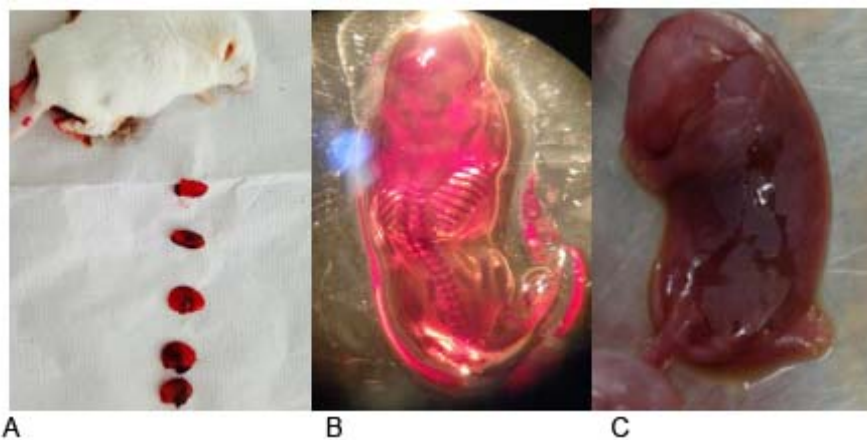


Figura 1. Fêmeas apresentando toxicidade gestacional com fetos abortados e morte das progenitoras (A). Feto corado pela técnica de alizarina red os ossos estão corados com cor púrpura. A massa muscular está translúcida (B). Feto com características de liquefação (C).

### Conclusão

Com base nos resultados expostos, concluiu-se que o extrato etanólico de *Simarouba versicolor* indica



toxicidade gestacional materno e fetal.

**Agradecimentos:** UFPI.

#### **Referências**

**Badke MR Ressel LB Budó MLD Silva FM.** Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano populares. Anna Nery (impr.), v.15, n.1, p.132-139, 2011.

**Barrow MV, Taylor WJA.** Rapid method for detecting malformations in rats fetuses. J Morphol, v.127, p.291-306, 1969.

**Calderon IMP, Rudge MVC, Brasil MAM, Henry MACA.** Diabete e gravidez experimental em ratas: 1. indução de diabete, obtenção e evolução de prenhez. Acta Cirúrgica Brasileira v.7, p.142-6, 1992.

**Lourenço ACS, Miguel LK, Guarido KL, Sensiate LA, Salles MJS.** Rev Bras Pl Med, v.11, n.4, p.407-413, 2009.

**Salewski E.** Farbemethoden zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der ratte Naunyn-Schmiedeberg's, Archives of Phamacology, v.247, p.367, 1964.

**Staples RE, Schnell VL.** Refinements in rapid clearing technic in the KOH-Alizarin red S method for fetal bone. Stain technology. v.39, p.61-3, 1964.

**Taylor P.** Pratical Teratology. London: Academic Press, 1986. 170 p.

**Wilson JG.** Methods for administering agents and detecting malformation in experimental animal. In: Wilson JC, Warkany J. Teratology principles and techniques. Chicago:Univ of Chicago Press, p.262-77.1965.



## **Efeito do óleo essencial dos frutos de aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no período pré-implante de ratas prenhes**

*Effect of oil essential of aroeira vermelha (Schinus terebinthifolius Raddi) in period of pre-implantation of pregnant rats*

**Moema Sousa de Oliveira<sup>1</sup>\*, Karoline Figueredo Rodrigue<sup>2</sup>, Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa<sup>1</sup>, Jamylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>3</sup>, Silvéria Regina de Sousa Lira<sup>4</sup>, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>5</sup>, Rozeverter Moreno Fernandes<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Doutoranda em Ciência Animal- Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Residente em Clínica médica e cirúrgica de cães e gatos no Hospital Universitário Veterinário- UFPI; <sup>3</sup>Docente curso Medicina Veterinária na Universidade Federal do Piauí; <sup>4</sup>Médica Veterinária- UFPI; <sup>5</sup>Docente no Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI; <sup>6</sup>Docente no Departamento de Morfofisiologia Veterinária - UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: moema.sousa.oliveira@gmail.com

### **Abstract**

Medicinal plants are important for supplying raw materials for the synthesis of drugs and may also be toxic. The species *Schinus terebinthifolius* Raddi, popularly known as aroeira red or pink pepper is widely consumed by many people. This study aimed to assess adverse effects of the essential oil from the fruits of *Schinus terebinthifolius* on pregnancy, administered during the preimplantation period. We used 32 pregnant animals divided into four groups, a control (Tween 80) and three treated oil at doses of 25mg / kg, 50mg / kg and 100mg / kg treated once daily, the first to the seventh day of pregnancy, orally. Statistically there was no difference between the treated groups compared to pre-implant loss, but there was a statistically significant difference with respect to the increased weight of the empty uterus, both in relative mass as absolute. It is concluded that the rats treated with oil of mastic-red fruits showed signs of gestational toxicity.

**Keywords:** *Schinus terebinthifolius*, reproductive toxicity, pregnant rats.

**Palavras-chave:** *Schinus terebinthifolius*, toxicidade reprodutiva, ratas.

### **Introdução**

O uso de plantas medicinais pelo homem é muito antigo. Utilizada há milhares de anos para o tratamento de doenças, desde a pré-história na medicina popular de diversos povos. (Sousa; Silva, 2013). E esses conhecimentos e utilizações simbolizam muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos, e dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantém a prática de informações acumuladas durante séculos, apesar de nem sempre terem seus constituintes químicos conhecidos (Lacerda et al., 2013). Dentre essas plantas têm-se a *Schinus terebinthifolius* Raddi, pois possui importância comercial por se tratar de uma planta com propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias, pelo consumo de seus frutos na cozinha nacional e internacional (Nicollini; Puget; Mazza, 2009).

E em razão da ampla utilização das diversas partes da planta da espécie *Schinus terebinthifolius* Radd e, considerando ainda, que não se tem estudos realizados sobre os prováveis efeitos sobre os parâmetros reprodutivo torna-se indispensável proceder investigações nesta área. O objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis efeitos adversos do óleo essencial da *Schinus terebinthifolius* Raddi (OE-St) sobre a prenhez quando administrada durante o período pré-implantação.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ciências Fisiológicas do Departamento de Morfofisiologia Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da UFPI. Para o experimento foram utilizados 32 ratas *Wistar (Rattus norvegicus albinus)* do Biotério de Manutenção de Animais Destinados à Experimentação (BIOMADEx) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Todo o procedimento experimental realizado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI através do protocolo nº 029/11.

Para a realização deste trabalho, utilizou-se 32 ratas prenhes distribuídas em 4 grupos (n=8), sendo um controle (polissorbato 80) e três tratados com OE-St nas doses de (25mg/kg (T<sub>1</sub>); 50mg/kg (T<sub>2</sub>) e 100mg/kg (T<sub>3</sub>)). Os animais receberam o OE-St por via oral, utilizando-se uma sonda gástrica, do 1º ao 7º dia de prenhez, considerado o período de pré-implantação da espécie. No 8º dia os animais foram eutanasiados com Tiopental sódico, via intraperitoneal, na dose de 100mg/kg associado, na mesma seringa, a lidocaína na concentração de 10 mg/mL, no mesmo volume utilizado para o Tiopental, ao final foram avaliados pesos dos órgãos como: fígado, rins, adrenais, baço, útero, ovários, peso placenta e peso fetal e contagem na lupa de sítios de implantação e corpo lúteo. Os resultados foram comparados com grupo controle e foi utilizado o Software Graph Pad Prism 5.0 para a análise estatística, sendo os resultados considerados significativos quando apresentassem valores de P < 0,05.

## Resultados e Discussão

A implantação é um processo pelo qual o embrião realiza o contato físico e fisiológico íntimo com o endométrio materno para o estabelecimento da gestação. A característica fundamental desse processo é o desenvolvimento sincronizado do embrião para o estágio de blastocisto e a diferenciação do útero para o estado receptivo (Muller et al., 2009). Neste estudo, a exposição das progenitoras ao OE-St durante o período de pré-implantação (1° ao 7° dia de prenhez) não alterou estatisticamente as perdas pré-implantes em nenhum dos grupos tratados (Figura 1) que vai de acordo com os resultados encontrados por Ferreira (2012) que avaliou a interferência do extrato etanólico de *Buchenavia sp* no período de pré-implantação e não houve alterações significativas, o mesmo ocorreu com Muller (2007), que mostrou que o extrato etanólico da *Morinda citrifolia* não interferiu nas perdas pré-implantes.

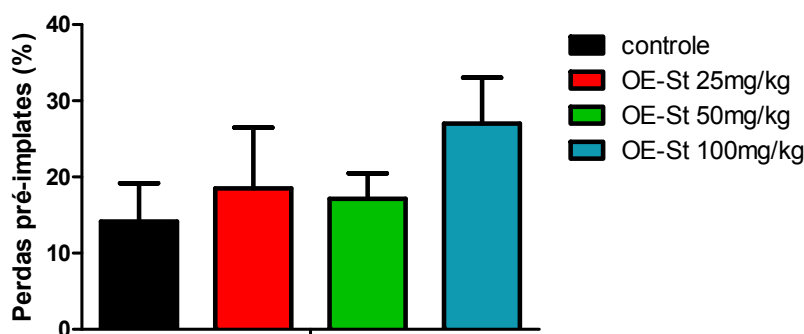


Figura 1. Perdas pré-implantes das progenitoras expostas ao óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* do 1° ao 7° dia de prenhez. n=08. (ANOVA/Tukey)

Registrou-se também, que o óleo nas doses administradas não foi capaz de alterar as massas absolutas do peso corporal das progenitoras. Entretanto, as doses de 25 e 50mg/kg aumentou, significativamente a massa absoluta e relativa do útero, mas não as massas absolutas e relativas de órgãos como: fígado, baço, rins, adrenais, ovário (Tabela 1). Mudanças significativas no peso relativo ou absoluto dos órgãos reprodutivos femininos (ovário, útero, vagina, hipófise) podem caracterizar efeitos adversos na reprodução. Tais alterações podem proporcionar informações adicionais sobre a toxicidade reprodutiva do agente químico estudado (US EPA, 1996). Além disso, o aumento da massa uterina corrobora os resultados encontrados em trabalhos anteriores, no estudo da atividade estrogênica do OE-St, que mostrou atividade estrogênica, uma vez que o hormônio estradiol participa do processo gestacional e aumento do peso do mesmo, pode-se inferir alterações adversas durante a gestação.

Tabela 1. Massa absoluta e relativa dos órgãos de progenitoras expostas ao tratamento com OE-St no período de pré-implantação (1° ao 7° dia de prenhez).

Variáveis	Controle	OE-St 25 mg/kg	OE-St 50mg/kg	OE-St 100mg/kg
Massa corporal (g)	194,25 ±4,03	205,29 ±6,96	203,25±6,47	204,62±8,07
Massa absoluta (g)				
Baço	0,77 ±0,09	0,72 ± 0,05	0,73 ±0,06	0,87 ± 0,07
Adrenais	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,10 ± 0,02
Rins	1,57 ± 0,05	1,63 ± 0,08	1,67 ± 0,06	1,69 ± 0,05
Fígado	7,65 ± 0,40	7,13 ± 0,30	7,69 ± 0,50	8,12 ± 0,50
Ovário	0,22 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,16 ± 0,04
Útero vazio	0,75 ± 0,07	2,68 ± 0,62 ***	2,078 ± 0,60 **	1,17 ± 0,32
Massa relativa (mg/100g)				
Baço	0,39 ± 0,05	0,35 ± 0,031	0,36 ± 0,03	0,42 ± 0,04
Adrenais	0,05 ± 0,006	0,052 ± 0,007	0,064 ± 0,01	0,052 ± 0,01
Rins	0,80 ± 0,03	0,82 ± 0,04	0,82 ± 0,01	0,83 ± 0,03
Ovários	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,086 ± 0,02	0,088 ± 0,02
Fígado	3,96 ± 0,27	3,48 ± 0,13	3,76 ± 0,14	3,95 ± 0,13
Útero vazio	0,39 ± 0,04	1,94 ± 0,65***	1,00 ± 0,28*	0,57 ± 0,16

Valores expressos como média ± E.P.M. (n= 8 animais/grupo). \*P < 0,01 e \*\*\*P < 0,001 comparado com o controle. "ANOVA" two-way" seguida de pós-teste de Bonferroni.

## Conclusão

Com base nos resultados expostos, concluiu-se que o óleo essencial de aroeira-vermelha, nas doses administradas, não influenciou o período de pré-implantação. Embora as menores doses tenham aumentado significativamente a massa absoluta e relativa do útero, sugerindo, possíveis efeitos adversos na reprodução.



#### Referências

- Lacerda JRC, Sousa JS, Sousa LCFS, Borges MGB, Salgado AB, Silva MJS.** Conhecimento popular sobre plantas medicinais e sua aplicabilidade em três segmentos da sociedade no município de Pombal-PBV. *Agropecuária Científica no Semi-Árido*, v.9, n.1, p.14- 23, 2013.
- Muller JC.** toxicidade reprodutiva da *morinda citrifolia* linn. 20017. 103f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2007.
- Muller JC, Giuliana GK, Botelho AC, Bufalo AC, Boareto, Rattmann YD, Martins ES, Cabrini DA, Otuki MF, Dalsenter PR.** Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. *Journal of Ethnopharmacology* 12, p.229-233, 2009.
- Nicolini JV, Puget FP, Mazza MGG.** Avaliação da eficiência de extração de óleo essencial de *schinus terebinthifolius* raddi (aroeira vermelha) pelos métodos de hidrodestilação e arraste a vapor. VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Uberlândia, MG, 2009.
- Sousa BA, Silva MS.** Associação de plantas medicinais empregada nas afecções do trato respiratório. *Natural Resources*, v.3, n.2, 2013.
- U.S. EPA.** (Environmental Protection Agency). Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. EPA/630/R-96/009, Washington, DC. 1996



## Efeito do óleo essencial dos frutos de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no desenvolvimento da progênie de ratas

*Effect of oil essential of aroeira red (Schinus terebinthifolius Raddi) in the development of rat progeny*

Moema Sousa de Oliveira<sup>1</sup>\*, Karoline Figueredo Rodrigue<sup>2</sup>, Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa<sup>1</sup>, Janylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>3</sup>, Silvéria Regina de Sousa Lira<sup>4</sup>, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>5</sup>, Rozevterter Moreno Fernandes<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Ciência Animal- Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Residente em Clínica médica e cirúrgica de cães e gatos no Hospital Universitário Veterinário, UFPI; <sup>3</sup>Docente curso Medicina Veterinária na Universidade Federal do Piauí; <sup>4</sup>Médica Veterinária, UFPI; <sup>5</sup>Docente no Departamento de Bioquímica e Farmacologia, UFPI; <sup>6</sup>Docente no Departamento de Morfofisiologia Veterinária - UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: moema.sousa.oliveira@gmail.com

### Resumo

*The aroeira red is a plant of the species Schinus terebinthifolius Raddi, a plant native to Brazil and used in folk medicine for several people. This work was the objective of evaluate in the development of the progeny of rats treated with essential oil of fruits of aroeira red. Was used four groups of pregnant rats, where three groups were treated with the oil at doses of 25, 50 and 100mg /kg each, and one control group treated with Tween 80. All groups were treated orally once a day, from the 8° day of pregnancy until day before the birth, who interrupted in parturition day and continued treatment until day weaning ( $\pm 21$  days). It was observed that there was an increase in bilateral ankle sprain while the progenies in the two higher doses. We conclude that female rats treated with OE-St in the post-implementation period, showed a possible maternal-fetal toxicit.*

**Keywords:** *Schinus terebinthifolius*, rats, progeny.

**Palavras-chave:** *Schinus terebinthifolius*, ratas, progênie.

### Introdução

A *Schinus terebinthifolius* Raddi possui importância comercial por se tratar de uma planta com propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias, pelo consumo de seus frutos na cozinha nacional e internacional (Nicollini; Puget; Mazza, 2009). O seu uso na medicina popular é extenso, sendo as cascas e folhas secas utilizadas no combate a febres, problemas do trato urinário, cistites, uretrites, diarreias, blenorragia, tosse e bronquite, problemas menstruais com excesso de sangramento, gripes e inflamações em geral (Bandes, 2008). Em razão da ampla utilização espécie *Schinus t.* Raddi, este trabalho teve como objetivo verificar o desenvolvimento geral da progênie, após administração ao óleo durante a prenhez e lactação, avaliando a presença de anomalias e/ou mau formações externas.

### Material e Métodos

Para a realização deste protocolo experimental 32 ratas prenhas (04 grupos de 08 animais) que foram tratadas, por via oral, uma vez ao dia, com o óleo essencial dos frutos da aroeira-vermelha (OE-St) nas doses de 25mg/kg, 50mg/kg e 100mg/kg e um grupo controle tratado com tween 80 (100mg/kg). As administrações iniciaram no 8° dia de prenhez sendo interrompida somente no dia do nascimento da progênie (21 $\pm$ 1 dia de prenhez) e continuando no dia seguinte ao parto até o desmame ( $\pm$ 21 dias). Os filhotes foram separados no 21° dia pós-natal, que corresponde a idade de desmame e colocados em novas gaiolas. Durante a gravidez e amamentação foram observados: ganho de peso das progenitoras e viabilidade fetal. Os filhotes foram observados quanto às características de evolução: surgimento de pelos, abertura palpebral bilateral, deslocamento do pavilhão auricular e abertura do canal vaginal nos filhotes fêmeas, de acordo com Mello (2007). O índice de viabilidade fetal foi determinado conforme as fórmula da US-EPA (Agência Americana de Proteção Ambiental 1996), segundo as quais:

- Índice de Viabilidade (IV%) = (n° de filhotes vivos no quarto dia pós-natal  $\div$  n° de nativos) x 100.

### Resultados e Discussão

A exposição das progenitoras ao OE-St no período de pós-implantação não afetou o ganho de massa corporal (Figura 01) dos grupos tratados quando comparados com o grupo controle. Estes resultados indicam que o óleo nas doses investigadas não provocou toxicidade materna nessa espécie, com relação ao estado nutricional das ratas. Em relação à viabilidade da prole, ou seja, o número de filhotes que viveram até o quarto dia de observação, não houve diferença significativa entre os grupos tratados e o controle (Figura 2). A massa corporal ao nascimento, o período (dias) para o surgimento de pelos, a abertura bilateral dos olhos e a abertura do canal vaginal (fêmeas) (Tabela 1) não diferiram entre os descendentes expostos ao óleo essencial de aroeira vermelha em relação ao controle. Já as doses de 50 e 100mg/kg aumentaram o período para o deslocamento bilateral (dias).

Apesar do óleo não ter interferido no peso das progenitoras no período de gestação e lactacional, o óleo



administrado nas progenitoras neste último, interferiu no desenvolvimento de seus descendentes em relação ao período de descolamento dos pavilhões auriculares (dias), onde observou-se um aumento, em dias, para que ocorresse esse deslocamento quando comparado com o grupo controle. Embora a via de exposição tenha sido alterada de membrana feto-placenta para leite materno, indicando uma possível redução nos níveis de exposição aos componentes do óleo, sugerindo toxicidade no desenvolvimento pós-natal, pois os descendentes das progenitoras tratadas com óleo, aumentou o tempo de deslocamento do pavilhão auricular, e isso interfere no desenvolverem normalmente do filhote, indicando que o óleo apresenta toxicidade fetal. Trabalho semelhante foi realizado por Oliveira (2013), onde foi avaliado a exposição ao extrato etanólico da *Simarouba versicolor* no período gestacional e lactacional, e observou que o extrato não interferiu no desenvolvimento geral dos seus descendentes (período de descolamento dos pavilhões auriculares, aparecimento dos pelos, abertura dos olhos, abertura do canal vaginal e viabilidade da prole). Muller (2011) também realizou o mesmo protocolo com o extrato etanólico da *Copaifera luetzelburgii* durante a lactação e da mesma forma, o extrato não provocou efeitos adversos sobre o desenvolvimento geral dos descendentes.

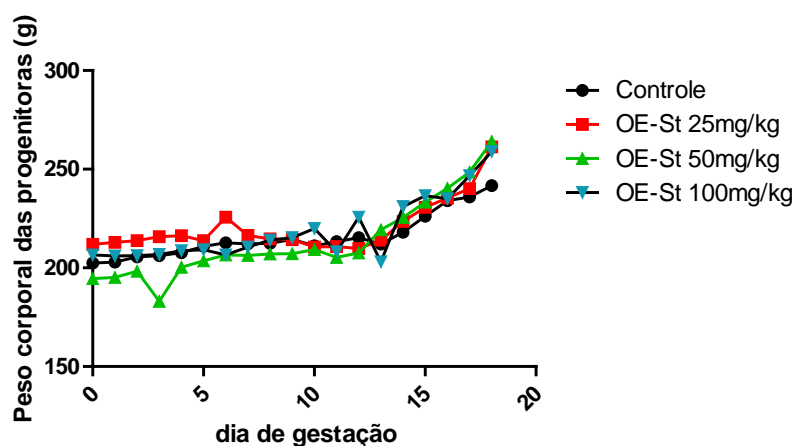


Figura 1. Ganho de massa corporal das progenitoras expostas ao óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* no período pós-implantação. Os dados expressam média  $\pm$  erro padrão (ANOVA One Way /Tukey).

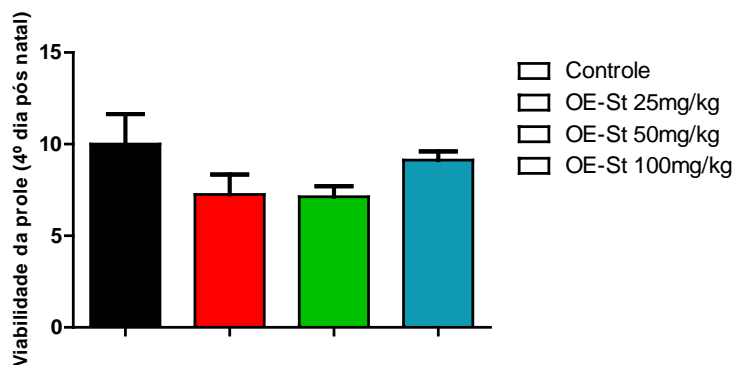


Figura 2. Número de filhotes vivos até o 4º dia pós natal, descendentes das progenitoras expostas ao OE-St no período pós-implantação. Os animais foram tratados com controle (polissorbato 80, v.o.), OE-St (25, 50 e 100 mg/kg, v.o). Os dados expressam média  $\pm$  erro padrão, n=8, (ANOVA One Way /Tukey).

Tabela 1. Desenvolvimento geral da progênie que foram expostos ao Óleo essencial dos frutos de aroeira vermelha através do tratamento de suas progenitoras do 8º dia de prenhez ao 21º dia de lactação. Os resultados expressam a média + erro padrão.

Variáveis	Controle	OE-St 25 mg/kg	OE-St 50mg/kg	OE-St 100mg/kg
Massa corporal ao nascimento (g)	6,69 $\pm$ 0,17	7,34 $\pm$ 0,25	7,27 $\pm$ 0,24	6,70 $\pm$ 0,23
Surgimento de pelos (dia)	6,25 $\pm$ 0,16	6,87 $\pm$ 0,29	6,5 $\pm$ 0,53	6,37 $\pm$ 0,37
Abertura palpebral bilateral (dia)	19,25 $\pm$ 0,50	13,87 $\pm$ 0,64	14,25 $\pm$ 0,37	13,25 $\pm$ 0,49
Deslocamento do ouvido (dia)	19,25 $\pm$ 0,50	21,12 $\pm$ 0,35	23,38 $\pm$ 1,21 ***	22,13 $\pm$ 1,08
Abertura do canal vaginal (dia)	43,33 $\pm$ 3,01	41,57 $\pm$ 2,48	44,71 $\pm$ 1,41	44,57 $\pm$ 1,20

Valores expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8 animais/grupo). "ANOVA" two-way" seguida de pós-teste de Bonferroni com significância estatística de \*\*P < 0,01 e \*\*\*P < 0,001 comparado com o controle.



### Conclusão

Diante dos resultados expostos, conclui-se que as fêmeas de ratas tratadas com o OE-St no período de pós-implantação, revelaram um aumento do tempo de deslocamento da orelha da progênie, revelando possível toxicidade materno-fetal.

### Referências

- Banco de Desenvolvimento do Espírito Santo S/A (BANDES).** A cultura da aroeira em São Mateus e arredores: um pioneirismo que o Bandes deve apoiar. Vitória: BANDES, 2008.
- Mello M.** Avaliação da toxicidade reprodutiva do pesticida trifênil hidróxido de estanho (TPTH) em camundongos. 2007, 131fls. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária). Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2007.
- Muller JBBS.** Abordagem farmacológica da *Copaifera luetzelburgii*, Harms. Com ênfase em toxicologia reprodutiva: estudo *in vivo* e *in vitro*. 2011. 80p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.
- Nicolini JV, Puget FP, Mazza MGG.** Avaliação da eficiência de extração de óleo essencial de schinus terebinthifolius raddi (aroeira vermelha) pelos métodos de hidrodestilação e arraste a vapor. VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Uberlândia, MG, 2009.
- Oliveira MS.** Avaliação da toxicidade do extrato etanólico da *Simarouba versicolor* sobre parâmetros reprodutivos de ratas wistar: estudo *in vivo* e *in vitro*. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Piauí, 2013.
- U.S. EPA** (Environmental Protection Agency). Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. EPA/630/R-96/009, Washington, DC. 1996.



## **Estudo histopatológico dos órgãos reprodutivos de ratos tratados com extrato etanólico de *Simarouba versicolor* em ensaio de toxicidade sub-crônica**

*Histopathological study of the reproductive organs of rats treated with ethanol extract of *Simarouba versicolor* in test sub-chronic toxicity*

**Ykro Talvanis Duarte Cavalcante<sup>1</sup>, Ana Paula Gomes Pereira Cunha<sup>1</sup>, Rayssa Dourado Fontenele<sup>2</sup>, Mayara de Lima Moreno Fernandes<sup>2</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>3</sup>, Rozeverter Moreno Fernandes<sup>4</sup>, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>5</sup> \***

<sup>1</sup>Graduados em Med. Veterinária/ Centro de Ciências Agrárias/ Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Graduandas em Medicina Veterinária- CCA/UFPI; <sup>3</sup>Depto. de Clínica e Cirurgia Veterinária, CCA/UFPI; <sup>4</sup>Docente no Departamento de Morfofisiologia Veterinária, CCA/UFPI; <sup>5</sup>Docente no Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de ciências da Saúde, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: zenaidemoreno@gmail.com

### **Abstract**

*The aim of this study was to evaluate the reproductive organs on the effect of *Simarouba versicolor* ethanol extract (EEOH-Sv) at a dose of 10mg / kg administered for 60 days / VO. The testes, epididymis, prostate and seminal vesicles were sectioned and placed in vials Boan solution for 24 hours and then preserved in alcohol at 70%. Histopathology of organs were dehydrated in xylol, impregnated and embedded in paraffin. Subsequently cut in the microtome at a thickness of 3  $\mu$ m and subjected to hematoxylin-eosin. The results of the histopathology of the testis was observed that the EEOH-Sv caused concretions in 100% of animals evaluated and 20% of the animals showed sharp associated with degeneration of the seminiferous tubules. In the epididymis was observed in 40% epithelial thickening, and there was 100% of benign prostatic hypertrophy associated in 20% of animals inflammatory infiltrate. Thus, it is concluded that-Sv EEOH was toxic to this organs except the seminal vesicle.*

**Keywords:** toxicity; subchronic; *Simarouba versicolor*.

**Palavra-chave:** toxicidade; sub-crônica; *Simarouba versicolor*.

### **Introdução**

As plantas medicinais se tornaram importantes fontes de novos medicamentos. Mais de 70.000 espécies já foram catalogadas como detentoras de propriedades terapêuticas (Hawkins, 2008). Estas são fontes de substâncias químicas essenciais para a humanidade. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 80% das pessoas nos países em desenvolvimento dependem do uso de plantas medicinais para os cuidados primários com a saúde (Bhaskar et al., 2007). Além disso, cerca de 50% dos medicamentos utilizados na medicina moderna são de origem vegetal (Nyongbela et al., 2010). Dentre essas plantas de uso popular que possuem atividade inseticida destaca-se a *Simarouba versicolor*, conhecida como pau-paraíba. Da *S. versicolor*, foi isolado dois quassinóides, excelsina e 11-acetato-amarolídio, sendo que a excelsina foi isolada pela primeira vez neste gênero (Mesquita, 1997). Existem vários estudos sobre a atividade biológica desta planta, porém estudos sobre a reprodução dos mamíferos não constam na literatura científica atual, o que mostra a importância do presente estudo. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato etanólico da *S. versicolor* quanto à capacidade de produzir alterações sobre os órgãos reprodutivos e responsáveis pela metabolização e excreção dos fármacos.

### **Materiais e Métodos**

Os experimentos foram desenvolvidos nos Laboratórios de Ciências Fisiológicas/DMV/CCA da Universidade Federal do Piauí no período de agosto de 2014 a julho de 2015. A metodologia desenvolvida neste experimento foi submetida ao Comitê de Ética e Experimentação Animal através do projeto guarda-chuva intitulado: Ensaio Farmacológicos para avaliação da toxicidade e efeito de Plantas Medicinais em Testes In Vitro e In Vivo Sobre os Parâmetros Reprodutivos de Ratos e Camundongos sob o protocolo nº 029/14.

Os órgãos da reprodução analisados foram testículos, epidídimo e próstata. Estes foram seccionados e colocados em frascos com solução de Boan durante 24 horas e depois conservados em álcool à 70%. Para realização do histopatológico, os órgãos foram re-seccionados e submetidos ao processamento histopatológico: desidratação em xilol, impregnação e inclusão em parafina. Em micrótomo, os fragmentos tissulares foram seccionados em espessura de 3  $\mu$ m e submetidos a coloração com hematoxilina-eosina e examinados microscopicamente para a verificação de possíveis alterações histopatológicas (Beçak; Paulette, 1976; Tolosa et al., 2003).



### Resultados e Discussão

No estudo histopatológico do testículo percebeu-se que o EE-Sv na dose de 10mg/kg causou concreções em 100% dos animais avaliados (Tab. 1), sendo que 20% dos animais apresentaram conjuntamente acentuada degeneração dos túbulos seminíferos. Já os testículos de todos os animais do grupo controle mostraram-se normais.

Tabela 1. Avaliação histopatológica dos testículos dos animais tratados com EESv em diferentes doses comparadas com os controles negativo.

Grupo	Testículo	Percentual (%)
DMSO+H <sub>2</sub> O	Normal	100
EE-Sv 10 mg/kg	Concreção	100
	Degeneração	20

A tabela 2 mostra que o epidídimo de todos os animais do grupo controle não sofreram alterações histopatológicas, enquanto que no grupo de 10mg/kg, 04 animais apresentaram.

Tabela 2. Avaliação histopatológica dos epidídimos dos animais tratados com EE-Sv em diferentes doses comparadas com os controles negativos.

Grupo	Epidídimo	Percentual (%)
DMSO+H <sub>2</sub> O	Normal	100
EE-Sv 10 mg/kg	Espessamento epitelial	40

Na avaliação da próstata percebeu-se que o EE-Sv na dose de 10mg/kg causou hiperplasia prostática benigna em 100% dos animais avaliados (Tab. 3), sendo que 20% dos animais apresentaram ainda infiltrado inflamatório.

Tabela 3. Avaliação histopatológica das próstatas dos animais tratados com EE-Sv em diferentes doses comparadas com os controles negativos.

Grupo	Próstata	Percentual (%)
DMSO+H <sub>2</sub> O	Normal	100
EE-Sv 10 mg/kg	Hiperplasia prostática benigna	100
	Infiltrado inflamatório	20

Ao avaliar a vesícula seminal nos grupos controle (DMSO+H<sub>2</sub>O) e EE-Sv 10mg/kg observou-se a normalidade histológica em 100% dos animais (Tab. 4).

Tabela 4. Avaliação histopatológica das vesículas seminais dos animais tratados com EESv em diferentes doses comparadas com os controle negativos.

Grupo	Vesícula Seminal	Percentual (%)
DMSO+H <sub>2</sub> O	Normal	100
EE-Sv 10 mg/kg	Normal	100

### Conclusão

No estudo histopatológico, o EE-Sv mostrou-se tóxico aos testículos, epidídimos e próstata na dose de 10 mg/kg, porém não produziu efeito na vesícula seminal.

### Referências

- Arriaga AMC, Mesquita AC, Pouliquen Y.BM, Lima RA, Cavalcante SH, Carvalho MG, Siqueira JA, Alegrio LV, Braz Filho R.** Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.74, n.3, p.415-424, 2002.
- Fernandes MZ de LCM, Fernandes RM, Lopes JB.Viana GEN.** Determinação da toxicidade aguda da *Simarouba versicolor* em camundongos. *Rev Bras Pl Med*, v.6, n.2, p 44-47, 2004.
- Mesquita ML.** Mariana Laundry de. Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da atividade citotóxica. 2009. 223 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas)-Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- Pires JEP, Fernandes RM, Fernandes MZLCM, Viana GEN, Dourado JCL, Sousa SAA.** Determination of average inhibitory concentration (CI50) aqueous extract of *Simarouba versicolor* St. Hill about the oviposition of the cattle tick (*Boophilus microplus*, Canestrine, 1887). *Rev Bras Pl Med*, v.9, p.23-26 2006.



## **Estudo *in vitro* do efeito miocontrátil da *Simarouba versicolor* em útero isolado de ratas wistar**

*Study in vitro effect of miocontractile Simarouba versicolor in womb isolated wistar rats*

**Marlene Sipaúba de Oliveira<sup>1,\*</sup>, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>2</sup>, Kenney de Paiva Porfírio<sup>3</sup>, Tuanny Creusa Medeiros Damasceno<sup>3</sup>, Estefane Kelly Dias Araújo<sup>4</sup>, Danilo de Sousa Lima<sup>5</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>6</sup>, Rozeverter Moreno Fernandes<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>Doutoranda do programa de pós-graduação em Ciência animal, Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Professora do departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>3</sup>Mestrando do programa de pós-graduação em Ciência animal, Universidade Federal do Piauí; <sup>4</sup>Estudante de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina; <sup>6</sup>Professor do departamento Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>7</sup>Professor do departamento Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>5</sup>Mestre em zootecnia e médico veterinário, Oeiras, PI, Brasil.

\*E-mail [peossoasipauba@yahoo.com.br](mailto:peossoasipauba@yahoo.com.br)

### **Abstract**

*Simarouba versicolor* belongs to *Simaroubaceae* family. It is known that this and other species of the genus have several activities including the antiestrogen and male infertility. In order to verify the ethanol extract of *Simarouba versicolor* (Sv-EtOH) in isolated uterus of Wistar rats, studies have been conducted with Sv-EtOH on the tonic contractions induced by KCl or oxytocin, recorded by isometric transducers coupled to a system of digital acquisition, by characterizing that blocking the uterine contraction induced by oxytocin, it was found that there was no significant inhibition of these contractions in the presence of Sv EtOH at concentrations of 500, 750, 1000 µg / mL. The Sv-EtOH (81, 243, 500, 750, 1000µg/mL) did not induce a significant relaxation of contractions induced by KCl showing an  $E_{MAX}$   $49.26 \pm 7.32$  and did not induce significantly the induced relaxation of concentrations with oxytocin  $E_{MAX}$  de  $18,78 \pm 4,91\%$ .

**Palavras-chave:** *Simarouba versicolor*, ratas wistar, úteros.

### **Introdução**

As plantas medicinais são importantes por fornecerem matéria-prima para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos. O emprego das plantas é supervalorizado no uso tradicional com base nos seus benefícios medicinais (Tresvenzol et al., 2006; Garcia et al., 2010). O desconhecimento dos efeitos adversos de algumas dessas ervas e seus usos indiscriminados por influência de modismos ou fatores culturais suscita o interesse em conhecer melhor suas propriedades deletérias, bem como a dose e a parte empregada da planta, pois existem aquelas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses (Zhan; Zhou, 2003; Brito et al., 2006). A *Simarouba versicolor*, conhecida popularmente por pau-paraíba, pertence à família simaroubaceae, é encontrada desde o Nordeste até o estado de São Paulo e em alguns pontos dos estados do Pará e Mato Grosso do Sul. Sabe-se que esta e outras espécies do gênero apresentam diversas atividades: inseticidas, anticolinesterásica, anti-inflamatória, antitumoral, anti-helmíntica, antimalárica, amebicida, antiviral; antiestrogênica e também infertilidade masculina (Almeida, 2007; Oliveira, 2016) fatos que nos desperta maior interesse em estudar a os mecanismos de ação da *Simarouba versicolor* na reprodução de fêmeas. Dentro desta perspectiva, este trabalho tem por objetivo verificar possíveis efeitos miocontrátil do extrato etanólico da *Simarouba versicolor* (Sv-EtOH) sobre o sistema reprodutivo em útero isolado de ratas wistar.

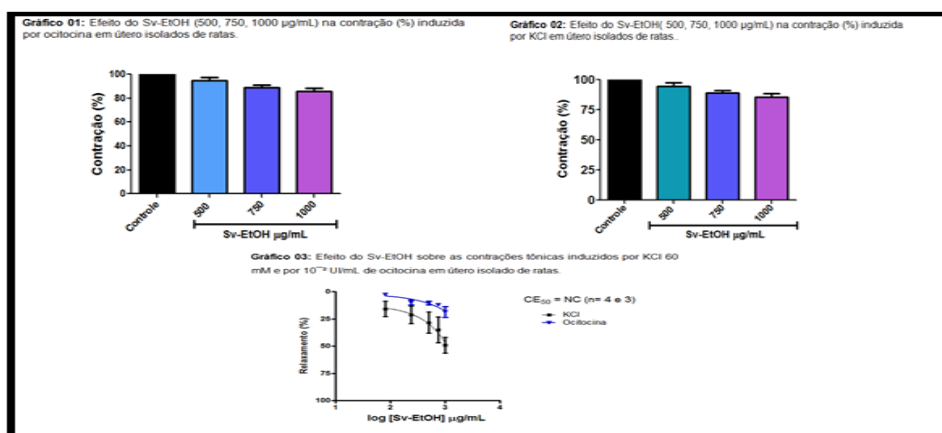
### **Material e Métodos**

O extrato etanólico foi preparado a partir de cascas de *Simarouba versicolor*, Angical (6°05'41"28'), Piauí, Brasil. A excisada da espécie foi identificada e depositada no acervo do Herbário Graziela Barroso (TEPB) da Universidade Federal do Piauí, em Teresina, Piauí sob o número TEPB-20.883. A casca da planta foi submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar durante três dias a uma temperatura máxima de 45 °C ( $\pm 1$ ). Após completa secagem, esse material foi triturado em moinho, tipo Willi. O extrato etanólico foi obtido colocando-se de 1 Kg da matéria vegetal em etanol durante quatro dias em temperatura ambiente em maceração a frio e depois foi filtrado. Após quatro extrações sucessivas foi homogeneizado e colocado no evaporador rotativo a 45 °C ( $\pm 1$ ) acoplado a um banho termostatizado, sendo posteriormente liofilizado. O pó obtido foi diluído em dimetilsulfóxido a 6%, acrescido de água destilada. Para a caracterização do bloqueio da contração induzida por ocitocina ou kcl as ratas eram tratadas 24h antes do inicio dos experimentos com Cipionato de estradiol (15µg/kg i. m.) para indução do estro. Decorrido este tempo as ratas eram eutanasiadas por deslocamento cervical seguido por secção dos vasos cervicais. Após abertura da cavidade abdominal, era feita a dissecação do útero, colocando-o em uma placa de Petri contendo solução nutritiva de Locke-Ringer a 32°C sob aeração com carbogênio. Em seguida, os dois cornos uterinos eram separados por meio de uma incisão abertos longitudinalmente e suspensos verticalmente em cubas de vidro (10 ml). Para estabilização da preparação, esta

era mantida em repouso por 60 minutos antes do contato com qualquer agente, sob tensão de 1g, efetuando, neste período, a renovação da solução nutritiva da cuba a cada 15 minutos. Após o período da estabilização, duas curvas concentração - respostas cumulativas similares á ocitocina eram obtidas. Em seguida na ausência da ocitocina, o extrato Sv-EtOH foi incubado por 15 minutos em diferentes concentrações e em experimentos independentes. Após este período, na presença do extrato Sv-EtOH, uma curva de concentração-respostas cumulativa á ocitocina e KCl era obtida. Os resultados foram avaliados comparando-se a porcentagem das respostas contrátil na presença do extrato Sv-EtOH com aquela obtida pela amplitude média das curvas de controle na ausência do mesmo. O tipo de antagonismo exercido pelo extrato Sv-EtOH foi avaliado com base na análise dos valores de  $EC_{50}$  e  $E_{MAX}$  da ocitocina e KCl calculados a partir das curvas concentrações-respostas, na ausência (controle) e na presença do extrato Sv-EtOH. Para o efeito do extrato Sv-EtOH sobre as contrações tônicas induzidas por KCl ou por ocitocina, o útero era montado como descrito anteriormente, em seguida tecido permanecia em repouso por 60 minutos em contato com a solução de Locke-Ringer. Após o período de estabilização, eram obtidas duas curvas concentrações-respostas de amplitude similares induzidas por 60mM de KCl ou  $10^{-2}$  UI/mL de ocitocina, de amplitudes similares, em preparações diferentes, registrados através de transdutores isométricos acoplados a um sistema de aquisição digital. Durante a fase tônica sustentada da segunda respostas, o extrato Sv-EtOH era adicionado cumulativamente á cuba. O relaxamento produzido foi expresso como porcentagem reversa da contração inicial produzida pelos agentes contráteis. A  $EC_{50}$  foi obtida por análise de regressão não-linear. Para a caracterização do bloqueio da contração fásicas e tônicas induzida por ocitocina ou KCl foi utilizado Sv-EtOH nas concentrações de 500, 750, 1000  $\mu\text{g/mL}$  e efeito Efeito do Sv-EtOH sobre as contrações tônicas induzidas por KCl ou por ocitocina nas concentrações de 81, 243, 500, 750, 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

### Resultado e Discussão

No entanto, neste trabalho ao observarmos a caracterização do bloqueio da contração uterina induzidas por ocitocina, verificou-se que não ocorreu inibição significativa dessas contrações na presença do Sv-EtOH nas concentrações de 500, 750, 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Da mesma forma, observou-se que o extrato (500, 750, 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) frente às contrações induzidas pelo agente contracturante KCl 60, também não antagonizou significativamente (gráficos 1, 2). O Sv-EtOH (81, 243, 500, 750, 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) não induziu relaxamento de maneira significativa sobre as contrações induzidas por KCl apresentando um  $E_{MAX}$  de  $49,26 \pm 7,32$  e não induziu de maneira significativa o relaxamento das concentrações induzidas por ocitocina com  $E_{MAX}$  de  $18,78 \pm 4,91\%$  (gráfico 3). Sabe-se, que a contração do músculo liso é disparada principalmente pelo aumento  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  através dos canais de cálcio voltagem dependentes (Cav), como pela ligação do agonista a um receptor, que pode ser independente do potencial de membrana originalmente designados por acoplamento eletromecânico e fármaco-mecânico, respectivamente (Somlyo, 2003). Quando um agonista, como ocitocina, liga-se a receptores acoplados a proteína G (GPCR), estes ativam a cascata de fosfoinosítídeos, usualmente através da produção de IP3 mediada pelas proteínas Gq e G11 estimulando, assim, a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo sarcoplasmático. Os agonistas contráteis podem também elevar a  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  através de receptores de rianodina e estimular a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  através dos múltiplos tipos de canais, incluindo  $\text{Ca}^{2+}$  operados por estoque, por receptor ou por voltagem (Mcfadzen, 2002). Como um dos processos comuns às vias de sinalização da ocitocina e KCl é a despolarização da membrana plasmática, com conseqüente abertura dos Cav que leva a um influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ , resultando na manutenção da fase tônica da contração (Wray, 2005). Avaliou-se o efeito do extrato sobre o componente tônico da resposta contrátil induzida por KCl (acoplamento eletromecânico) e por ocitocina, que age por acoplamento misto (fármaco e eletromecânico) em útero isolado se rata. No entanto, neste experimento o extrato não foi capaz de relaxar de maneira significativa o útero pré-contraído com KCl e ocitocina, sugerindo que este não tem ação espasmolítica ou relaxante sobre útero. Resultados gráficos 1, 2, 3.





### Conclusão

O extrato não inibiu e não relaxou contrações induzidas por KCl ou ocitocina em úteros isolados de ratas. Portanto extratos ou outros produtos provenientes da *Simarouba versicolor* não devem ser ingeridos por gestantes, e/ ou lactantes até que sejam realizadas mais pesquisas com outras doses e técnicas que comprovem seus mecanismos de ação.

### Referências

- Almeida MMB, Arriaga AMC, Santos ALK, Lemos TLG, Braz-Filho R, Vieira IJC.** Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década. *Química Nova*, v.30, p.935-951, 2007.
- Brito NMB, Neto GPNS, Torres IO, Pacheco FT, Batista LL.** Efeito do extrato de Sacaca (*Croton cajucara*, BENTH) nas glândulas mamárias de ratas submetidas à ooforectomia. *Revista Paraense de Medicina*, v.20, 2006.
- Garcia RC, Louredo VF, Mattedi WC, Garcia Jr RP.** Ensaio biológico do Almeirão-roxo (*Cichorium intybus* L.) e barbatimão (*Styphnodendron barbatiman* MARTIUS) em ratas em menopausa cirúrgica. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v.7, p.65-80, 2010.
- McFadzean I, Gibson A.** The developing relationship between receptor operated and store-operated calcium channels in smooth muscle. *Br J Pharmacol*, v.135, p.113, 2002.
- Oliveira MS, Fernandes MZLC, Mineiro ALBB, Santos RF, Viana GEN, Coelho JM, Ribeiro SM, Cunha APGP, Costa JF, Fernandes RM.** Toxicity effects of ethanol extract of *Simarouba versicolor* on reproductive parameters in female Wistar rats. *African J Biotechnol*, v.15, p.221-235, 2016.
- Tresvenzol LM, Paula JR, Ricardo AF, Ferreira HD, Zatta DT.** Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v.3, p.22-28, 2006.
- Wray S, Burdyga T, Noble K.** Calcium signalling in smooth muscle. *Cell Calcium*, v.38, p.397-407, 2005.
- Zhan J, Zhou PA.** A simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricinus agglutinin. *Toxicology*, v.186, n.1-2, p.119-123, 2003.



## Frequência de ejaculação de ratos tratados com extrato etanólico de *Senna spectabilis*

*Ejaculation frequency of rats treated with ethanol extract of Senna spectabilis*

Dalvan Fortaleza Alencar<sup>1</sup>, Andressa de Carvalho Teixeira Lima Celestino<sup>1</sup>, Brenda Lurian do Nascimento Medeiros\*, Marina Silva Carvalho<sup>1</sup>, Paulo Alex Bezerra Sales<sup>1</sup>, Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa<sup>2</sup>, Jamylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>3</sup>, Amilton Paulo Raposo Costa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando da Universidade Federal do Piauí, Campus Teresina, PI, Brasil; <sup>2</sup>Pos-Graduando da Universidade Federal do Piauí, Campus Teresina, PI; <sup>3</sup>Docente da Universidade Federal do Piauí, Campus Bom Jesus, PI; <sup>4</sup>Docente da Universidade Federal do Piauí, Campus Teresina, PI, Brasil.

\*Email: brenda24medeiros@hotmail.com

### Abstract

*This study aimed analyse the effects of Senna spectabilis on ejaculatory frequency and copulatory parameters of rats, getting some answers related to aphrodisiacs and adverse effects and potential influencers in the sexual behavior of animals observed in some species of plants similar to Senna spectabilis. Were used 35 Wistar rats, being 28 with erectile dysfunction induced by paroxetine. The ethanol extract of S. spectabilis (EESs) were administered in three different doses (250, 500 and 1000 mg/kg body weight) for seven consecutive days. Then the rats were allocated in cages with female rats at estrus phase and the ejaculatory frequency was noted. The animals in this study showed no erection while they were on observation and no significant behavioral change was observed, compared to the control group.*

**Key-words:** reproduction, phytotherapy, native plants.

**Palavra-chave:** reprodução, fitoterapia, plantas nativas.

### Introdução

A alimentação representa o aspecto mais importante para o desenvolvimento de bons reprodutores. Algumas plantas apresentam efeitos tóxicos gravíssimos e até mesmo letais. Sendo assim, a sua utilização pode culminar no desenvolvimento de efeitos como a diminuição de peso ou até mesmo na alteração dos padrões reprodutivos normais (Guimarães Filho & Soares, 1999). Estudos fitoquímicos da *S. spectabilis* (Bolzani, et al., 2004) comprovam a presença de no mínimo quatro substâncias bioativas diferentes. Estão presentes alcaloides, alcaloides piperidínicos, triterpenospentacíclicos e misturas de fitoesteroides. A *Senna spectabilis* possui semelhanças organolépticas tais como cor, aspecto, odor e sabor adocicado da fava com a espécie *Samanea tubulosa*, pertencente à família das leguminosas e que possui efeito tóxico comprovados sobre a gestação, como diminuição do peso da ninhada e número de fetos em ratas Wistar (Sales, 2011). Com isso, o estudo da *Senna spectabilis* objetiva estudar os efeitos da planta na frequência ejaculatória em ratos, bem como em seus parâmetros copulatórios.

### Material e Métodos

As vagens de *Senna spectabilis* foram coletadas e secas em estufa a 45 °C, por cinco dias. Em seguida foram moídas em moinho de facas e o pó obtido foi macerado em álcool absoluto 99,5%, por 15 dias. O extrato foi filtrado, concentrado em evaporador rotativo e liofilizado. Foram usados 35 ratos machos dos quais 28 foram induzidos a uma disfunção sexual causada pela Paroxetina na dose de 10 mg/kg de peso corporal por via oral, durante três semanas, uma vez ao dia. Ao final desse período, 30 minutos após a última dose, os animais foram alojados em gaiolas com fêmeas sabidamente em estro e foi mensurada a performance copulatória, realizada durante a fase escura do ciclo claro-escuro, com pouca luminosidade. Foram observadas a frequência da monta, frequência de introdução, frequência de ejaculação, latência da monta, latência de introdução, latência de ejaculação e os intervalos entre ejaculações. Animais que apresentarem uma redução de no mínimo 25% dos padrões de performance copulatória foram considerados com disfunção sexual. Os animais foram divididos em cinco grupos de sete animais cada. O primeiro grupo foi o controle positivo, com animais normais (sem disfunção sexual) que receberam água destilada por via oral. O segundo grupo foi o controle negativo, onde os animais (com disfunção sexual) receberam uma dose de Paroxetina de 10 mg/kg de peso vivo, por via oral. Os outros três grupos continham animais com disfunção sexual e receberam extrato etanólico das vagens de *S. spectabilis* (EESs) em três doses diferentes (250, 500 e 1000 mg/kg de peso corporal) além de Paroxetina na dose de 10 mg/kg de peso vivo, por via oral. Os animais receberam os tratamentos uma vez ao dia durante sete dias. Ao final desse período, 30 minutos após a última administração, os animais foram alojados em gaiolas com fêmeas sabidamente em estro (1µg de benzoato de estradiol por 100 gramas de peso corporal, durante três dias, por via subcutânea) e foi mensurada a performance copulatória anotando-se a frequência de ejaculação conforme descrito anteriormente.



### Resultados e Discussão

Os animais que receberam EEVSS não apresentaram ereção durante o tempo de observação, equiparando-se ao grupo controle (paroxetina). A paroxetina tem efeito similar a serotonina no momento pós ejaculatório. Percebemos a atuação serotoninérgica da paroxetina, o qual não foi inibido pelo EEVSS como podemos ver na Figura 1. Portanto, evidenciou que as substâncias do extrato não tem influência sobre a frequência copulatória.

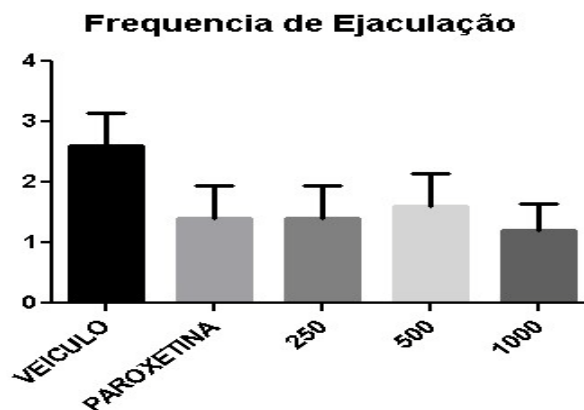


Figura 1. Frequência de ejaculação em animais com disfunção sexual desenvolvida com paroxetina e tratados com EEVSS.

### Conclusão

Não foi observado nenhuma alteração na frequência ejaculatória de animais tratados como extrato etanólico das vargens *Senna spectabilis* nas doses testadas.

### Referências

- Bolzani VS, Viegas JR C, Furlan M, Barreiro EJ, Yong MCM, Tomazela D, Eberlin M.** Further bioactive piperidine alkaloids from the flowers and green fruits of *Cassia spectabilis*. *J Nat Prod*, v.67, n.5, p.908-910, 2004.
- Guimarães Filho C, Soares JGG.** Desempenho de novilhos Sistema CBL para recria e engorda de bovinos no Sertão pernambucano. In: Simposio Nordestino de Alimentação de Ruminantes, 4, 1992, Recife, PE.
- Sales PAB.** Toxicidade reprodutiva e sistêmica do extrato hidroalcoólico de vargens de *Samanea tubulosa* (Benth.) em ratas Wistar. Teresina, 2011. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Agrárias Universidade Federal do Piauí.



## Hiperplasia endometrial cística e hidrossalpinge em coelha

*Cystic endometrial hyperplasia and hydrosalpinx in a rabbit*

**Hérika Regina Vieira Santiago\***, **Laura Jamille Argolo Paredes**, **André Rebelo Pantoja**, **Cláudio Douglas de Oliveira Guimarães**, **Anália Costa de Oliveira Neta**, **Victor Matheus Alves Ribeiro**, **Washington Luiz Assunção Pereira**, **Ruth Helena Falesi Palha de Moraes Bittencourt**

Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém-Pará-Brasil.

\*E-mail: herika\_santiago@hotmail.com

### Abstract

*Cystic endometrial hyperplasia is an endometrial modification the uterus of female dogs and cats correlated to high levels of estrogen and prolonged exposure to progesterone. In this context, the present study reports the occurrence of cystic endometrial hyperplasia and hydrosalpinx in rabbits. A rabbit was referred to the HOVET/UFRA for elective ovarian-hysterectomy. Histological examination showed an increase in the size of the endometrial glands and cystic distension. The tube uterine constituted cystic distention with epithelial of pseudostratified epithelium ciliated. This case report describes the first time the cystic endometrial hyperplasia and hydrosalpinx in a rabbit.*

**Keywords:** progesterone, hyperplasia, rabbit.

**Palavras-chave:** progesterona, hiperplasia, coelho.

### Introdução

Hiperplasia endometrial cística (HEC) é uma alteração endometrial do útero de cadelas e gatas correlacionada a altos níveis de estrógeno e exposição prolongada de progesterona seja endógeno ou exógeno predispondo para hidrometra, mucometra e piometra (Dow, 1959; Hagman, 2004).

Essa patologia é menos prevalente em gatas, pois estes animais possuem ovulação induzida, necessitando do coito para desenvolvimento do tecido lúteo e secreção de progesterona (Wykes e Olson, 1996) semelhante ao que ocorre em coelhas.

O líquido intra-uterino que se acumula na HEC é estéril e a condição clínica é chamada de hidrometríte ou mucometríte. Ambas são incomuns e, geralmente, são achados incidentais durante ovariossalpingohisterectomias eletivas (Stone, 2006)

A hidrossalpinge é a distensão do lúmen da tuba devido ao acúmulo de fluido aquoso, geralmente causada por obstrução adquirida (Ferreira, 2010).

Nesse contexto, o presente trabalho objetiva relatar a ocorrência de hiperplasia endometrial cística associada a hidrossalpinge em coelha.

### Material e Métodos

Um coelho, fêmea, sem raça definida (SRD), de 1 ano de idade, foi encaminhada ao Hospital Veterinário “Dr. Mário Dias Teixeira” da Universidade Federal Rural da Amazônia (HOVET/UFRA) para realização de uma ovariossalpingohisterectomia eletiva. As técnicas anestésicas seguiram recomendações de Fantoni e Cortopassi (2009) e Vilani (2014) e a técnica cirúrgica foi realizada de acordo com Boussarie (2001).

Procedeu a análise anatomopatológica dos cornos uterinos, ovários e tubas uterinas, que em seguida foram fixados em formalina 10% tamponada e processados rotineiramente, incluídos em parafina, cortados a 4 µm de espessura, corados com Hematoxilina e Eosina (H & E) para exame histopatológico no Laboratório de Patologia Animal (LABOPAT/UFRA).

### Resultados e Discussão

Macroscopicamente, a parede uterina mostrou-se espessa, bilateralmente um dos cornos uterinos mediu 4,2 x 1,5 cm, o ovário correspondente, 1,7 x 0,6 cm. O corno uterino contralateral mediu 5,0 x 1,5 cm, o ovário correspondente, seccionado, 1,0 x 0,7 cm. No segundo fragmento de ovário, com medida 0,9 x 0,8 cm, notou-se aderência para-ovárica com distensão cística da tuba uterina, que mediu 4,3 x 4,0 cm e apresentava parede espessa, com vasos ingurgitados por sangue e que ao corte fluiu líquido seroso, translúcido.

Microscopicamente, diagnosticou hiperplasia endometrial cística, com o útero apresentando glândulas endometriais aumentadas de tamanho, algumas mostraram-se císticas (De Bosschere et al., 2001) e, algumas, com formações papiliformes luminiais. Os ovários exibiram normalidade morfológica, já a tuba uterina esquerda, histologicamente, apresentou características de hidrossalpinge, com distensão luminal (Pereira et al., 2015) e elementos histológicos correspondente a esse órgão com uma parede muscular lisa e conjuntiva, além de notável dilatação dos vasos sanguíneos (congestão ++). Internamente, áreas do revestimento com epitélio pseudo-estratificado, ciliado e com maior celularidade (hiperplasia)

Hardy e Osborne, (1974) descreveram que a progesterona estimula a proliferação das glândulas



endometriais, e a sequela mais evidente desta proliferação é a HEC. Em coelhas, o folículo maduro secreta estrógenos e progestágenos, no entanto não foi identificadas alterações que justificasse a produção anormal desses hormônios.

Estudos de Fieni (2006) descreveram que progesterona aumenta a atividade secretória das glândulas endometriais, resultando na produção e no acúmulo de grandes quantidades de fluidos dentro do útero semelhante ao observado neste estudo.

Já foi descrito por Pereira et al. (2015) HEC e hidrossalpinge em bovinos porém, diferentemente do caso aqui relatado, havia associação a cisto folicular.

### **Conclusão**

Este relato de caso descreve pela primeira vez o processo de hiperplasia endometrial cística e hidrossalpinge em coelha comprovado através de análise histológica.

### **Referências**

**Boussarie D.** Routine sterilisation techniques in companion rodents and lagomorphs. *Eur J Companion Anim Pract*, v.11, n.1, p.61-78, 2001.

**Cortopassi SRG, Fantoni DT.** Anestesia em cães e gatos. 2 ed. São Paulo: Roca, 2009. 620p.

**De Bosschere H, Ducatelle R, Vermeirsch H, Van Den Broeck W, Coryn M.** Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: Should the two entities disconnected? *Theriogenology*, v.55, p.1509-1519, 2001.

**Dow C.** The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *J Comp Pathol*, v.69, p.237-250, 1959.

**Ferreira AM.** Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia Aplicada e Problemas mais comuns (causas e tratamentos). Edição do Autor, Juiz de Fora, MG, 2010. 422p.

**Fiene F.** Patología de los ovarios y el utero In: Wanke MM, Gobello C. *Reproducción en Caninos y Felinos Domésticos*. Buenos Aires: Inter - Médica, cap.6, p.75-95, 2006.

**Hagman, R.** New aspects of canine pyometra - studies on epidemiology and pathogenesis. 55f. Uppsala, Suécia. Tese (Doutorado em Clínica de Pequenos Animais). Programa de Pós-graduação do Department of Small Animal Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, 2004.

**Hardy RM, Osborne CA.** Canine pyometra: pathophysiological diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions. *J Am Anim Hosp Assoc*, v.10, p.245-267, 1974.

**Pereira JVTN, Pinho RO, Meneses RM, Mendes VRA, Pereira ECM, Pereira CER, Guimarães JD.** Hiperplasia endometrial cística e hidrossalpinge associada a cisto folicular em bovinos. *Rev Bras Med Vet*, v.37, n.1, p.1-6, 2015.

**Stone EA.** Ovary and uterus. In: Slatter D (Ed.). **Textbook of small animal surgery**. 3 ed. v.2. Philadelphia: Elsevier Science, 2003. p.1487-1502.

**Vilani RGDC.** Anestesia Injetável e Inalatória. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. *Tratado De Animais Selvagens: Medicina Veterinária*. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470p.



## Ocorrência de adenocarcinoma endometrial em *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758): Relato de caso

*Occurrence of endometrial adenocarcinoma in Oryctolagus cuniculus (Linnaeus, 1758): Case report*

**Marcella Katheryne Marques Bernal\***, **Laura Jamille Argolo Paredes**, **Karina Ferreira Silveira**, **Breno Costa de Macedo**, **Leila Menezes da Silva**, **Ellen Yasmin Eguchi Mesquita**, **Ana Silvia Sardinha Ribeiro**, **Washington Luiz Assunção Pereira**

Instituto de Saúde e Produção Animal - ISPA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém-Pará-Brasil.

\*E-mail: mkbernalfh@gmail.com

### Abstract

*Endometrial adenocarcinoma is often view in rabbits at older age, disabling them for reproduction. The presente work aim to report the occurrence of endometrial adenocarcinoma in Oryctolagus cuniculus, in the city of Belém, Pará. The animal come to death and it was referred for the performance of its necropsy, the reproductive tract was fixed in formaldehyde to continue the histopathological examination. Grossly, it was verified that the uterine horn exhibited a dilated segment, vascularised and with friable tissue. Microscopically it was noticed tubular pattern formation with luminal expansion, anisocytosis, anisonucleosis and low mitotic rates. Then, due to the pathological characteristics, it suggests an occurrence of endometrial adenocarcinoma in rabbits.*

**Keywords:** Endometrial adenocarcinoma, rabbits, senescence.

**Palavras-chave:** Adenocarcinoma endometrial, coelha, senescência.

### Introdução

O adenocarcinoma endometrial é uma neoplasia que se origina do epitélio glandular uterino, sendo incomum em animais domésticos. Entretanto, espécies do gênero *Oryctolagus* sp. estão entre as espécies de maior ocorrência do tumor. Coelhas de idade variando de média a avançada são mais predisponentes ao adenocarcinoma endometrial, podendo ser acometidas a partir de dois anos de idade (Jones et al., 2000).

As alterações no endométrio ocorrem com maior frequência quanto maior a idade, devido às modificações que ocorrem nas células senis, portanto, estão associadas à presença de neoplasias de crescimento lento. Os sinais clínicos podem ser observados nos estágios avançados do crescimento neoplásico e incluem anorexia, apatia e sangramento vaginal (Klaphake e Murphy, 2012).

O neoplasma geralmente promove metástases e microscopicamente caracteriza-se como pequenas ilhas de células endometriais neoplásicas ou em unidades celulares, estando mescladas com estroma de tecido conjuntivo colagenoso denso, podendo algumas vezes observar áreas de calcificação (Jones et al., 2000).

Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi relatar a ocorrência de adenocarcinoma endometrial em *Oryctolagus cuniculus* no município de Belém, Pará.

### Relato de Caso

Um animal da espécie *Oryctolagus cuniculus*, fêmea, de 11 anos de idade, foi atendido no Ambulatório de Animais Silvestres da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), com histórico de apatia, anorexia, emagrecimento, desidratação e, posteriormente, morte. O espécime foi encaminhado ao Laboratório de Patologia Animal da UFRA para a realização dos exames necroscópico e histopatológico. Fragmentos de diversos órgãos, incluindo o útero contendo estrutura nodular, foram coletados e fixados em formalina tamponado a 10%. A macroscopia do nódulo uterino baseou-se na avaliação de aspecto, forma, consistência, coloração, tamanho e delimitação dos bordos. Para o exame histopatológico, as amostras fixadas foram seccionadas, processadas rotineiramente, incluídas em parafina, cortadas a 4 micrômetros de espessura e coradas pela hematoxilina e eosina para a confecção e leitura das lâminas.

### Resultados e Discussão

As análises macroscópica e histopatológica determinaram o diagnóstico de adenocarcinoma endometrial em coelha. No exame macroscópico observou-se segmento do uterino direito apresentando dilatação nodular, circunscrita, bem delimitada, de superfície regular, consistência elástica, com rica vascularização, medindo 6,0 x 4,0 cm. Ao corte notou-se consistência friável, aspecto irregular, com áreas de coloração esbranquiçadas e outras avermelhadas.

O exame microscópico revelou endométrio apresentando formações de padrão tubular com notável expansão luminal papilífera e crescimento epitelial de aspecto polipoide. As células morfológicamente apresentaram anisocitose, anisonucleose e baixo índice mitótico. Adicionalmente estavam presentes áreas de necrose coagulativa e áreas com boa vascularização no parênquima tumoral.



De acordo com Asakawa e seus colaboradores (2008), esta neoplasia se caracteriza pela presença de células epiteliais das glândulas endometriais com camadas irregulares e estruturas tubulares e/ou papilares. O crescimento das células neoplásicas pode ser expansivo, tanto para o lúmen quanto para o miométrio, sendo que o padrão papilar apresenta projeções papilares para o interior do lúmen.

Há relatos de carcinoma endometrial em uma coelha de oito anos de idade no estado de São Paulo (Cintra et al., 2015), porém, Quevedo e seus colaboradores (2015) descreveram um caso de adenocarcinoma endometrial em uma coelha com quatro anos de idade. No presente trabalho, o animal apresentou uma idade avançada de 11 anos.

O tratamento de eleição para este tipo de neoplasia é a ovario-histerectomia (Klaphake e Murphy, 2012), entretanto, não foi possível realizar este procedimento devido ao estado grave em que o animal se encontrava.

### **Conclusão**

O presente relato demonstrou que há ocorrência de adenocarcinoma endometrial em *Oryctolagus cuniculus* senil, acrescentando dados que contribuíram para estudo futuros.

### **Referências**

- Asakawa MG; Goldschmidt MH, Une Y, Nomura Y.** The immunohistochemical Evaluation of Estrogen Receptor- $\alpha$  and Progesterone Receptors of Normal, Hyperplastic, and Neoplastic Endometrium in 88 Pet Rabbits. *Veterinary Pathology*, v.45, n.2, p.217-225, 2008.
- Cintra PP, Ponce A, Santos RA, Magalhães GM.** Carcinoma endometrial em coelho – relato de caso. *Enciclopédia biosfera, Centro científico conhecer*, v.11., n.21, p.494-502, 2015.
- Jones TC, Hunt RD, King NW.** *Patologia Veterinária*, Malone. 6a. ed. v.25, p.1191-1192.
- Klaphake E, Murphy JP.** Disorders of the reproductive and urinary systems. In: Quesenberry KE, Carpenter, JW. *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. Missouri. Elsevier. 3a. ed. 2012.p. 217-231.
- Quevedo LS, Silveira CS, Damboriarena PA, Mallmann L, Pavarini SP, Anjos BL.** Adenocarcinoma endometrial em uma coelha (*Oryctolagus cuniculus*). *Acta Scientiae Veterinariae*, v.43, n.93, p.1-5, 2015.



## **Pesquisa de atividade androgênica e antiandrogênica em ratos tratados com extrato etanólico das vagens de *Senna spectabilis***

*Evaluation of Androgenic and antiandrogenic activity in rats treated with ethanol extract of pods of *Senna spectabilis**

**Amilton Paulo Raposo Costa, Brenda Lurian do Nascimento Medeiros, Dalvan Fortaleza Alencar\*, Emanuela Ribeiro Moura, Janylla Mirck Guerra de Oliveira, Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa, Marina Silva Carvalho, Moema Sousa de Oliveira**

Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: dalvanfortaleza@hotmail.com

### **Abstract**

*Although the high expression of the northeastern herds, the levels of productivity, reproducibility, carcass gain and other factors are low. This is mainly due to the main food source being from native plants of the Savanna. Were used male Wistar rats (64) divided into eight groups. These animals were castrated and, after recovery, received ethanol extract of pods of *Senna spectabilis* (EEVSs) in three different doses and testosterone intramuscularly (some groups). The animals were treated for 32 consecutive days and at the end were euthanized. The organs were collected and weighed for evaluation of androgenic and anti-androgenic activity. The extract showed no androgenic nor anti-androgenic activity at the doses tested.*

**Keywords:** reproduction, native plants, goats.

**Palavras-chave:** reprodução, plantas nativas, caprinos.

### **Introdução**

O rebanho nordestino, embora expressivo (25,3 milhões de bovinos, 6,4 milhões de caprinos e 7,7 milhões de ovinos), segundo Antônio Filho (2010), apresenta níveis de produtividade bastante baixos. Como a alimentação representa o aspecto mais importante para o desenvolvimento de bons reprodutores, acredita-se que esse baixo desempenho se deve principalmente às fontes alimentares nativas da caatinga. Na dieta de rebanhos caprinos e ovinos, as plantas nativas da caatinga são responsáveis por 90% da dieta. Além disso, a escassez de alimentos nesse bioma favorece inclusive a utilização de plantas que não são utilizadas comumente para esse fim (Gonzaga Neto et al., 2001; Araújo et al., 2006). O estudo dos efeitos metabólicos das plantas com potencial de suprir a carência alimentar de rebanhos é fundamental para viabilizar o investimento e a cultura das mesmas, além de permitir o conhecimento dos diversos efeitos, até mesmo letais, de algumas delas.

A *Senna spectabilis* possui características organolépticas tais como cor, aspecto, odor e sabor adocicado da fava semelhantes a espécie *Samanea tubulosa*, pertencente à família das leguminosas, a qual possui efeitos tóxicos sobre a gestação de ratos Wistar, como diminuição do peso da ninhada e número de fetos (Sales, 2011). Devido ao uso na alimentação de animais de produção, a presença de substâncias bioativas que podem causar toxicidade e à falta de estudos toxicológicos, esta pesquisa tem por objetivo estudar os efeitos do extrato etanólico das vagens de *Senna spectabilis* (EEVSs) sobre o sistema reprodutor de ratas.

### **Material e Métodos**

As vagens de *Senna spectabilis* foram coletadas e secas em estufa a 45 °C, por cinco dias. Em seguida foram moídas em moinho de facas e o pó obtido foi macerado em álcool absoluto 99,5%, por 15 dias. O extrato foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo a 40 °C e a pressão reduzida. O material concentrado foi mantido sob refrigeração e posteriormente liofilizado para retirada da água residual. Para a avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica foram utilizados 64 ratos machos pesando entre 180 – 250 g divididos em oito grupos (n=8). Os animais foram submetidos a orquiectomia e passaram por um período de recuperação (20 dias). Os grupos 1, 2 e 3 (atividade androgênica) receberam EEVSs em três doses diferentes (250, 500 e 1000 mg/kg de peso corporal). Os grupos 4, 5 e 6 (atividade antiandrogênica) receberam, respectivamente, as mesmas doses de extrato (via oral) acrescidas de testosterona via subcutânea na dose de 250 µg/100g de peso corporal diluída em óleo de milho. Foram feitos dois grupos controles (grupos 7 e 8), um deles recebeu o veículo do extrato por via oral e o outro recebeu, além do veículo do extrato, testosterona via subcutânea (250 µg/100g) diluída em óleo de milho. Os tratamentos duraram 32 dias. Os animais foram anestesiados e eutanasiados com Tiopental sódico (100mg/kg, via intraperitoneal). Os órgãos (vesículas seminais, próstata, fígado, rim, adrenais, baço, coração, pulmão e hipófise) foram removidos, pesados e avaliados macroscopicamente com auxílio de uma lupa.

### **Resultados e Discussão**

No protocolo de atividade androgênica e antiandrogênica, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos e os seus respectivos controles (Tab.1). Pode-se observar o perfeito funcionamento do



hormônio utilizado como controle (Testosterona), que aumentou o peso das vesículas seminais, próstata e glândulas adrenais.

Tabela 1. Avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica (erro  $\pm$  desvio padrão) através dos pesos dos órgãos (g/100gPC) dos animais tratados com Extrato etanólico das vagens de *Senna spectabilis* (EEVSs).

Tratamentos	Coração	Fígado	Rins	Adrenais	Próstata	Vesícula S.
Controle	0,35 $\pm$ 0,01	2,73 $\pm$ 0,42	0,72 $\pm$ 0,01	0,019 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,038 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	0,07 $\pm$ 0,007 <sup>a</sup>
250mg/kg	0,37 $\pm$ 0,01	2,98 $\pm$ 0,09	0,74 $\pm$ 0,02	0,017 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,050 $\pm$ 0,009 <sup>a</sup>	0,08 $\pm$ 0,010 <sup>a</sup>
500mg/kg	0,38 $\pm$ 0,02	2,49 $\pm$ 0,55	1,05 $\pm$ 0,30	0,020 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,046 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	0,07 $\pm$ 0,0060 <sup>a</sup>
1000mg/kg	0,30 $\pm$ 0,01	3,62 $\pm$ 0,09	0,55 $\pm$ 0,09	0,019 $\pm$ 0,002 <sup>a</sup>	0,027 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>	0,06 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>
Testosterona	0,34 $\pm$ 0,01	2,62 $\pm$ 0,12	0,75 $\pm$ 0,03	0,010 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	0,294 $\pm$ 0,021 <sup>b</sup>	0,65 $\pm$ 0,073 <sup>b</sup>
250+Test	0,01 $\pm$ 0,01	2,60 $\pm$ 0,18	0,71 $\pm$ 0,05	0,013 $\pm$ 0,001 <sup>b</sup>	0,338 $\pm$ 0,024 <sup>b</sup>	1,01 $\pm$ 0,242 <sup>b</sup>
500+Test	0,34 $\pm$ 0,02	2,88 $\pm$ 0,13	0,73 $\pm$ 0,02	0,012 $\pm$ 0,001 <sup>b</sup>	0,277 $\pm$ 0,022 <sup>b</sup>	0,71 $\pm$ 0,093 <sup>b</sup>
1000+Test	0,34 $\pm$ 0,18	2,62 $\pm$ 0,05	0,69 $\pm$ 0,02	0,014 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	0,290 $\pm$ 0,035 <sup>b</sup>	0,68 $\pm$ 0,050 <sup>b</sup>

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si no teste de Bonferroni a 5% de probabilidade. Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística.

### Conclusão

Após os estudos, conclui-se que o extrato etanólico das vagens de *Senna spectabilis*, nas doses testadas, não apresenta efeito androgênico e antiandrogênico em ratos.

### Referências

- Antonio Filho N.** Informe rural: Efetivo da pecuária da região nordeste. n.15, ano 4, 2010.
- Araújo Filho JA.** Manipulação da vegetação lenhosa da caatinga para fins pastoris. Sobral: EMBRAPA-CNPC, (Circular Técnica, 11), 18p., 1992.
- Gonzaga Neto S, Batista AMV, Carvalho FFR, Martínez RLV, Barbosa JE, Silva EO.** Composição Bromatológica, Consumo e Digestibilidade *In vivo* de Dietas com Diferentes Níveis de Feno de Catingueira (*Caesalpinieabracteosa*) Fornecida Para Ovinos Morada Nova. Revista Brasileira de Zootecnia, p.553-562, 2001.
- Sales PAB.** Toxicidade reprodutiva e sistêmica do extrato hidroalcoólico de vagens de *Samanea tubulosa* (Benth.) em ratos Wistar. 2011. Dissertação (Mestrado) em Ciências Animal. Centro de Ciências Agrárias Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2001.



## Poliorquidismo em coelho

*Polyorchidism in a rabbit*

**Hérika Regina Vieira Santiago\***, **Laura Jámille Argolo Paredes**, **Ligiane Ribeiro Lopes**, **Jecilene Santos Costa**, **Maria Geiciane Manço Souza**, **Leony Soares Marinho**, **Washington Luiz Assunção Pereira**, **Ruth Helena Falesi Palha de Moraes Bittencourt**

Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

\*E-mail: herika\_santiago@hotmail.com

### Abstract

*Polyorchidism is a rare congenital anomaly defined as the presence of more than two histologically proven testicles. In this context, the objective of this study is to report the occurrence of two intra-abdominal supernumerary testis in a rabbit. A rabbit was referred to the ISPA/UFRA for elective orchiectomy. On physical examination, it was detected the presence of testicles in the scrotum. In the necropsy record was described presence of bilateral structure similar to testis and epididymis which microscopically showed normal morphology. This case report describes for the first time polyorchidism in a rabbit with two intra-abdominal testis and two testicles located in the scrotum proven through histological analysis.*

**Keywords:** *Polyorchidism, testis, rabbit.*

**Palavras-chave:** Poliorquidismo, testículos, coelho.

### Introdução

Os coelhos com maturidade sexual têm dois testículos, alojados em dois sacos escrotais sem pêlo, e um pênis. Possuem o canal inguinal aberto durante toda a vida, ou seja, têm a capacidade de recolher os testículos no abdômen através do músculo cremaster, quando submetidos a situações de *stress* ou de doença (Quinton, 2005).

Poliorquidismo é uma anomalia congênita caracterizada pela presença de mais de dois testículos histologicamente comprovados. Essa alteração é incomum tanto na medicina humana como na medicina veterinária (Roca-Ferrer et al., 2015).

Casos de poliorquidismo foram relatados em humanos e nas espécies equina (Earnshaw, 1959; Davies, 2010), canina (Atkinson, 1999; Tamminen et al., 2012) e felina (Milwright e Smith, 1999; Roca-Ferrer et al., 2015), não sendo observado em coelhos. Em geral, essa condição caracteriza-se pela presença de um único testículo supranumerário (triorquidismo), entretanto, Roca-Ferrer et al. (2015) reportaram um caso de tetraorquidia em felino. Nesse contexto, o presente trabalho objetiva relatar a ocorrência de dois testículos supranumerários intra-abdominais em um coelho.

### Material e Métodos

Um coelho, macho, sem raça definida (SRD), de 1 ano de idade, foi encaminhado ao Bloco Cirúrgico do Instituto de Saúde e Produção Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia (ISPA/UFRA) para realização de orquiectomia eletiva. No exame físico, foi confirmada a presença de testículos no escroto. As técnicas anestésicas seguiram recomendações de Fantoni e Cortopassi (2009) e Vilani (2014) e a técnica cirúrgica foi realizada de acordo com Boussarie (2001).

Os testículos orquiectomizados foram fixados em formalina 10% tamponada e processados rotineiramente, incluídos em parafina, cortados a 4 µm de espessura, corados com Hematoxilina e Eosina (H & E) para exame histopatológico no Laboratório de Patologia Animal (LABOPAT/UFRA). O animal em questão veio a óbito 48 horas após o procedimento cirúrgico, sendo este submetido ao exame necroscópico.

### Resultados e Discussão

Macroscopicamente, os testículos de localização escrotal apresentaram consistência firme, coloração amarelo-acastanhada, medindo 3,5x1,0 cm e 2,5x0,9 cm.

Na necropsia, foi observado estrutura bilateral semelhante a testículo na região intra-abdominal ventral. Uma estrutura apresentando coloração vermelho intenso, medindo 3,0 x 1,5 cm e a contralateral, de coloração rosada medindo 2,5 x 1,2 cm.

Microscopicamente, os testículos e epidídimos escrotais apresentaram morfologia habitual com túbulos seminíferos e epididimários contendo células germinativas no lúmen tubular. Um dos testículos intra-abdominais demonstrou espermatogênese e morfologia tubular normal porém, intersticialmente estava presente notável infiltração de sangue com diagnóstico de hemorragia intersticial grave. No entanto, o mesmo apresentava espermatogênese, visto que o epidídimo correspondente exibiu morfologia habitual e massas de espermatozoides luminiais. O testículo intra-abdominal contralateral e epidídimo apresentaram normalidade estrutural e funcional.

Em medicina veterinária, poucos casos de poliorquidismo foram relatados. Earnshaw (1959), Milwright e Smith (1999), Atkinson (1999), Davies (2010), Tamminen et al. (2012) descreveram casos de triorquidia sendo





que, nos relatos de Earnshaw (1959), Milwright e Smith (1999) e Davies (2010), todos os testículos foram encontrados no escroto enquanto que Atkinson (1999) e Tamminen et al. (2012) descreveram a presença de dois testículos no abdômen e um testículo, no escroto, semelhante ao observado no presente estudo, que, no entanto, foram quatro órgãos. Roca-Ferrer et al. (2015) descreveram um caso de tetraorquidia onde os quatro testículos foram encontrados no abdômen. Milwright e Smith (1999), Tamminen et al. (2012) e Roca-Ferrer et al. (2015) também utilizaram análises histológicas para a comprovação dos testículos supranumerários.

### Conclusão

Este relato de caso descreve pela primeira vez o processo de poliorquidismo em coelho com dois testículos intra-abdominais e dois testículos localizados no escroto (tetraorquidia) comprovado através de análise histológica.

### Referências

- Atkinson MC.** Polyorchidism in a dog. *Veterinary Record*, v.11, n.145, n.24, p.711-712, 1999.
- Boussarie D.** Routine sterilisation techniques in companion rodents and lagomorphs. *Eur J Compan Anim Pract*, v.11, n.1, p.61-78. 2001.
- Cortopassi SRG, Fantoni DT.** Anestesia em cães e gatos. 2 ed. São Paulo: Roca, 2009. 620p.
- Davies EV.** Polyorchidism in a horse. *Veterinary Record*, v.21, n.167, p.310, 2010.
- Earnshaw RE.** Polyorchidism. *Can J Comp Med Vet Sci*, v.23, p.66. 1959.
- Leung AK.** Polyorchidism. *Am Fam Physician*, v.38, n.3, p.153-156, 1988.
- Milwright RD, Smith KC.** Polyorchidism in a cat. *Veterinary Record*, v.4, n.145, p.23, p.679-680, 1999.
- Quinton JF.** Lagomorfos: Coelho. In: \_\_\_ *Novos Animais de Estimação: Pequenos Mamíferos*. 1 ed. São Paulo: Roca, 2005. p.102-226.
- Roca-Ferrer J, Rodriguez E, Ramirez GA, Moragas C, Sala M.** A rare case of polyorchidism in a cat with four intra abdominal testes. *Reprod Domest Anim*, v.50, p.172-176, 2015.
- Tamminen TM, Leinonen MR, Kack H, Andersson M.** A polyorchid dog. *Reprod Domest Anim*, v.47, p.26-28, 2012.
- Vilani RGD.** C. Anestesia Injetável e Inalatória. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. *Tratado De Animais Selvagens: Medicina Veterinária*. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470p.