

EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DA *Simarouba versicolor* SOBRE OS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATAS

(Effect of *Simarouba versicolor*'s ethanolic extract on the reproductive parameters of rats)

Leonardo Lopes FURTADO; Marlene Sipaúba de OLIVEIRA; Clarissa de Castro e BRAGA;
Raissa Costa AMORIM; Mariana de Lima Moreno FERNADES; Ana Lys Bezerra
Barradas MINEIRO; Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno FERNANDES

Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Piauí, Teresina/PI.
CEP: 64049-550. *E-mail: leofurtado2017@outlook.com

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the ethanol extract of *Simarouba versicolor* on reproductive parameters of Wistar rats (*Rattus norvegicus*): implantation index (%), resorption index (%), pre-implant loss, post-implant loss of the parents, pregnancy, the rats with approximately 90 days, weighing 160 to 250 g were divided into 4 groups (n=8), Control, Sv-EtOH 10, 20, 40mg/kg. The formulas used to evaluate reproductive parameters were following: IMPLEMENTATION INDEX = (number of implantations / number of corpus luteum) x100; REABSORPTION INDEX = (no resorption*/no implants) x100* no resorptions = (no implants) - (no fetuses); PRE-IMPLANT LOSSES = (No. of corpus luteum - No. of implants / No. of corpus luteum) x100; POST-IMPLANT LOSSES = (number of implants - number of natives / number of implants) x100. In the analysis of the implantation index, resorption, pre-implant loss and post-implantation loss were not significant when compared to the control. These results indicate the absence of maternal toxicity for the investigated doses during the period of pre-implantation, implantation and full term pregnancy. However, further studies with different doses and concentrations of *Simarouba versicolor* extract will be necessary in the gestational period.

Key words: wistar rats, *Simarouba versicolor*, maternal toxicity.

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 (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 e ZHOU, 2003; BRITO *et al.*, 2006; MELLO, 2007).

A *Simarouba versicolor* é conhecida popularmente como caraíba, mata-cachorro, mata-menino, paparauba, paraíba, pau-caixeta, pau-paraíba, pé-de-perdiz, perdiz, pitombeira-de-maraju, simaruba-do-brasil (MESQUITA, 1997). É utilizada principalmente em construção rural, fabricação de papel, carpintaria, caixas para charutos e cigarros, palitos de dente e de fósforo (LORENZI, 1998). Empregada como inseticida, também apresenta atividade inibitória na ovipostura do carrapato bovino *Boophilus microplus*, podendo ser uma alternativa para o controle deste ectoparasita. A *Simarouba versicolor* apresenta uma vasta gama de atividades biológicas, tais como: antitumoral, antimalárica, antioxidante, amebicidas, antiviral e também antifertilidade masculina, fato que nos despertou interesse em estudar a *Simarouba versicolor* na reprodução de fêmeas.

Sendo assim, objetivou-se, por meio deste estudo, avaliar o efeito do extrato etanólico da *Simarouba versicolor* sobre os parâmetros reprodutivos: índice de implantações (%), índice de reabsorções (%), perdas pré-implantes e perdas pós-implantes das progenitoras.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, identificação e preparo do extrato etanólico

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 (± 1). Após completa secagem, o material foi triturado em moinho tipo Willi. O extrato etanólico foi obtido colocando-se de 1Kg 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 (± 1) acoplado a um banho termostatizado, sendo posteriormente liofilizado. O pó obtido foi diluído em dimetilsulfóxido a 6%, acrescido de água destilada.

Animais e acasalamentos

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (CEEA-PI 026/09). Foram utilizadas Ratas (*Ratus norvegicus*, variedade Wistar) nulíparas, pesando 160 a 250g e com aproximadamente 90 dias de idade. Elas foram colocadas com machos adultos na fase escura do ciclo na proporção de 01 macho para 02 fêmeas. Na manhã seguinte ao acasalamento foram realizados lavados vaginais para verificar a presença dos espermatozoides. O esfregaço foi realizado com auxílio de micropipetas, prosseguindo com a lavagem vaginal com 50 μ L de solução salina a 0,9% e posterior avaliação por microscopia óptica (10 e 40x). A presença do tampão vaginal, ou de espermatozoides no lavado vaginal confirmou a cópula, sendo considerado o primeiro dia da gestação.

Tratamentos

Confirmada a prenhez, as ratas com aproximadamente 90 dias, pesando 160 a 250g foram divididas em 4 grupos (n=8): Controle (veículo), Sv-EtOH 10, 20 e 40mg/kg. As ratas foram alojadas em gaiolas individuais e tratadas diariamente por gavagem do primeiro ao vigésimo dia de gestação.

No 20º dia de gestação, as ratas foram anestesiadas com tiopental sódico 25mg/kg (i.p.) e submetidas à cesariana, para retirada e avaliação do útero gravídico e seu conteúdo. Foi realizada, então, a contagem do número de fetos, bem como do número de sítios de implantação. Em seguida fez-se a pesagem do útero gravídico (cheio), dos fetos individualmente e da placenta de cada feto. Após a retirada do útero procedeu-se à eutanásia das ratas com sobredose de tiopental sódico (100mg/kg). Os corpos lúteos foram contados com auxílio de uma lupa nos

ovários direito e esquerdo de cada animal e os sítios de implantação uterinas foram contados a olho nu nos dois cornos após a retirada dos fetos.

As fórmulas utilizadas para avaliação dos parâmetros reprodutivos foram às seguintes: ÍNDICE DE IMPLANTAÇÃO = (nº implantações/nº corpos lúteos) x100; ÍNDICE DE REABSORÇÕES = (nº reabsorções* / nº implantes) x100 * nº de reabsorções = (nº implantes) – (nº fetos); PERDAS PRÉ-IMPLANTES = (nº de corpos lúteos – nº de implantes/nº de corpos lúteos) x100; PERDAS PÓS-IMPLANTES = (nº de implantes – nº de nativos/nº de implantes) x100.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o programa *Graphpad Prism*® versão 5.0, através de análise de variância ANOVA (One Way), seguido do pós-teste de Tukey, com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$. A comparação de dados no mesmo grupo foi feita pelo teste t student pareado com nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição das progenitoras ao extrato etanólico da *Simarouba versicolor* (10, 20, 40mg/kg) durante o período gestacional não alterou ($p > 0,05$) os índices de reabsorções, perdas pré-implantes e perdas pós-implantes, quando comparadas com os resultados dos animais do controle (Tab. 01). Também não foram observados sinais macroscópicos de toxicidade no animal e no útero. Os índices de implantações no tratamento da Sv-EtOH (10, 20, 40mg/kg). Esses resultados indicam ausência de toxicidade materna para as doses investigadas durante a gestação.

Tabela 01: Efeito do Sv-EtOH durante a gestação (1º ao 20º dia), sobre os parâmetros reprodutivos comparados com o controle

Parâmetros Reprodutivos	Controle	Tratamentos com Sv-EtOH		
		10mg/kg	20mg/kg	40mg/kg
Índice de implantações(%)	100±0,0	100±0,0	99,03±0,96	100±0,0
Índice de reabsorções (%)	8,52±6,10	2,50±1,63	2,60±1,75	2,28±0,147
Perdas pré-implantes (%)	8,52±6,10	2,50±1,63	1,56±1,56	2,28±0,147
Perdas pós-implantes (%)	8,52±6,10	2,50±1,63	1,56±1,56	2,28±0,147

Os dados expressam média (±EPM). $p > 0,05$ (ANOVA / Tukey), n=8.

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.(MULLER *et al.*, 2009). O tempo e a integridade do transporte dos gametas e zigotos, importante para fertilização e sobrevivência embrionárias, são susceptíveis a perturbações causadas por corpos químicos. A perturbação desses processos contribui para a redução na taxa de fertilização e aumento da perda embrionária precoce que são identificados como perdas pré-implantação (US EPA, 1996).

A atividade antiestrogênica da *Simarouba versicolor* observada no teste uterotrófico descrito por OLIVEIRA *et al.* (2016) foi um indicativo de que o extrato possa interferir no processo de implantação, por alterar a ação do estrógeno no útero. Um trabalho realizado por DAO *et al.* (1996) demonstrou que substâncias antiestrogênicas administradas nos três primeiros dias de gestação em ratos possuem efeito anti-implantação, contrariando os resultados encontrados no nosso estudo.

Esses resultados indicaram ausência de toxicidade materna para as doses investigadas durante o período de pré-implantação, implantação e gestação a termo, bem como, não foram observadas alterações macroscópicas nas progenitoras e seus órgãos. No entanto, serão necessários novos estudos com doses e concentrações diferentes do extrato de *Simarouba versicolor* no período gestacional.

REFERÊNCIAS

- BRITO, N.M.B.; NETO, G.P.N.S.; TORRES, I.O.; PACHECO, F.T.; BATISTA, L.L. Efeito do extrato de Sacaca (*Croton cajucara*, BENTH) nas glândulas mamárias de ratas submetidas à ooforectomia. Revista Paraense de Medicina. v.20, p.15-18, 2006.
- DAO, B.; VANAGE, G.; MARSHALL, A.; BARDIN, C.W.; KOIDE, S.S. Anti-Implatation Activity of Antiestrogens and Mifepristone. Contraception, v.54, n.4, p.253-258, 1996.
- GARCIA; R.C.; LOUREDO; V.F.; MATTEDI, W.C.; GARCIA JR, R.P. Ensaios biológicos do Almeirão-roxo (*Cichorium intybus* L.) e barbatimão (*Styphnodendron barbatiman* MARTIUS) em ratas em menopausa cirúrgica. Revista Eletrônica de Farmácia, v.07, n.1, p.65-80, 2010.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2ª ed., Nova Odessa. Instituto Plantarum, v.2, 1998. 384p.
- MELLO, M. Avaliação da toxicidade reprodutiva do pesticida trifetil hidróxido de estanho (TPTH) em camundongos. 2007, 131p. (Tese de Doutorado em Vigilância Sanitária). Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2007.
- MESQUITA, A.G. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae). 1997. 119p. (Dissertação de Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará, 1997.
- MULLER, J.C. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. 2007, 88p. (Dissertação de Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PIRES, J.E.P; FERNANDES, R.M.; FERNANDES, M.Z.L.C.M.; VIANA, G.E.N.; DOURADO, J.C.L.; SOUSA, S.A.A. Determination of average inhibitory concentration (CI50) aqueous extract of *Simarouba versicolor* St. Hill about the oviposition of the cattle tick (*Boophilus microplus*, Canestrine, 1887). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v.9, n.4, p.23-26, 2006.

US EPA. Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. EPA/630/R-96/009, Washington, 1996. 126p.

ZHAN, J.; ZHOU, P.A. A simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricius agglutinin. *Toxicology*, v.186, n.1/2, p.119-123, 2003.