

**INSTITUTO METROPOLITANO DE ENSINO SUPERIOR
UNIÃO EDUCACIONAL DO VALE DO AÇO**

**Amanda Rossi Poncio Vita
Ana Eliza Alves Travenzoli
Emerson Gerhardt Fernandes
Marcos Henrique Dutra Santiago**

**ESTUDO TOXICOLÓGICO EM ROEDORAS DA LINHAGEM
WISTAR TRATADAS COM *Himatanthus lancifolius***

**IPATINGA
2018**

Amanda Rossi Poncio Vita
Ana Eliza Alves Travenzoli
Emerson Gerhardt Fernandes
Marcos Henrique Dutra Santiago

**ESTUDO TOXICOLÓGICO EM ROEDORAS DA LINHAGEM
WISTAR TRATADAS COM *Himatanthus lancifolius***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto Metropolitano de Ensino Superior/
IMES - Univaço, como requisito parcial à
graduação no curso de Medicina.

Prof.^(a) orientador(a): Dr^a. Jaqueline Melo
Soares

Prof.^(a) coorientador(a): Dr. Leonardo Ramos
Paes de Lima

IPATINGA

2018

ESTUDO TOXICOLÓGICO EM ROEDORAS DA LINHAGEM WISTAR TRATADAS COM *Himatanthus lancifolius*

Amanda Rossi Poncio Vita¹, Ana Eliza Alves Travenzoli¹, Emerson Gerhardt
Fernandes¹, Marcos Henrique Dutra Santiago¹, Leonardo Ramos Paes de Lima²
& Jaqueline Melo Soares³

1. Acadêmicos do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.
2. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. Coorientador do TCC.
3. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. Orientador do TCC.

Resumo

Introdução: O uso de plantas para tratamento de enfermidades é uma prática milenar, utilizada até os dias atuais, naturalmente ou em forma de fitoterápicos. A *Himatanthus lancifolius*, conhecida popularmente como “agoniada”, é usada, principalmente, no tratamento de irregularidades menstruais, dores e espasmos uterinos. Porém, o uso indiscriminado de fitoterápicos pode trazer consequências graves à saúde, como lesões hepáticas. **Objetivo:** Identificar possíveis efeitos tóxicos em roedores expostos a diferentes concentrações do extrato da *Himatanthus lancifolius*. **Métodos:** Foram feitas análises fitoquímicas da planta, seguindo o Manual de Fitoquímica e Cromatografia de Vegetais para conhecimento dos compostos. No ensaio biológico, foram utilizadas 24 animais da linhagem Wistar, com peso médio de 210 g e divididas em quatro grupos experimentais, sendo um controle e outros três expostos a diferentes concentrações de extrato durante 45 dias: G1 (0,05 g/mL), G2 (0,1 g/mL) e G3 (0,2 g/mL). Realizou-se controle de intervalo do tempo, água, alimentação e peso de cada animal. Após eutanásia, foram coletadas amostras de sangue, para realização de provas bioquímicas, e amostras de fígado para análise histológica. Em relação aos dados estatísticos foram utilizados os testes de Analysis of Variance (ANOVA), Tukey e Desvio Standard (DS). **Resultados:** Observaram-se diminuição estatisticamente significativa: do peso ($p= 0,006$) no GC, G2 e G3; ALT ($p= 0,043$) no G1 comparado a G2; HDL ($p= 0,05$) entre os grupos tratados com extrato e não tratados. Em relação à histologia, constataram-se alterações celulares compatíveis com degeneração gordurosa do fígado nos três grupos expostos ao extrato. **Conclusão:** A redução do HDL no G1 e G2 infere elevação do LDL, associada ao aumento do risco cardiovascular. A diminuição do peso pode estar relacionada à alteração da microbiota intestinal, o que afeta o processo de absorção entérica e provoca um quadro de diarreia. A avaliação histológica foi sugestiva de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica para os grupos com maior dosagem do extrato, sendo que o G1 mostrou-se dentro de uma dosagem possivelmente segura, entretanto não foram encontrados marcadores bioquímicos suficientes para comprovar lesão hepática, provavelmente devido à duração do experimento.

Palavras-chave: Histopatologia. Medicamentos Fitoterápicos. Esteatose hepática.

Introdução

Desde a origem da humanidade, há indícios de que o homem busca na natureza tratamentos para suas enfermidades (MELO FILHO, 2016). Em 2006, foi aprovada no Brasil, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS, que regulamenta o uso de plantas medicinais e fitoterapia. Atualmente, cerca de 82% da população brasileira faz uso de plantas medicinais (BRASIL, 2012; CACCIA-BAVA et al., 2017).

A *Himatanthus lancifolius* é uma planta pertencente à família Apocynaceae, nativa do Brasil, encontrada, exclusivamente, na América do Sul na forma de arbustos e subarbustos, abundante nas regiões Nordeste e Sudeste (BARROS et al., 2013). Sua casca apresenta taninos, açúcares, e principalmente alcaloides, predominando a classe dos alcaloides indólicos (FRANÇA, BROWN, SANTOS, 2000; LOPES, 2008). “Agoniada”, como é conhecida popularmente, é utilizada no tratamento de irregularidades menstruais, dores e espasmos uterinos, dores gástricas, flatulência, vertigem, cefaleia, fadiga e lombalgia (BARROS et al., 2013).

Apesar da longevidade das práticas fitoterápicas, o empirismo ainda é predominante, podendo haver prejuízos para a saúde. O corpo humano utiliza de vias metabólicas conhecidas para a degradação e eliminação de substratos provenientes de tais práticas, mas o entendimento dos possíveis agravos é limitado (CORTEZ, JEUKENS, 2017).

Alguns substratos podem atingir o fígado, que é um órgão essencial no metabolismo e excreção, podendo ser tóxicos e levar a lesões neste órgão, que variam de brandas a gravíssimas. O uso empírico de chás, por exemplo, pode levar desde a uma hepatite assintomática, coexistindo apenas alterações de enzimas hepáticas, a uma hepatite aguda, de evolução favorável, ou de forma grave, com prognóstico reservado (SOUZA, 2011). Dentre as alterações hepáticas mais significativas, destaca-se a esteatose, que ocorre quando a quantidade de lipídios nos hepatócitos ultrapassa 5% do peso desse órgão, sendo essa a causa mais comum de doença hepática (PINTO et al., 2012).

A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica chega a representar quase metade (46%) de todas as patologias do fígado nos países ocidentais, com uma incidência de 20 a 86 casos para cada mil habitantes e uma prevalência entre 20 a 30% da população mundial (MATOS, 2017). Assintomática nas fases iniciais, o

diagnóstico pode ser feito através de vários métodos, desde um exame de imagem, biópsia e marcadores bioquímicos, sendo eles: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gama-glutamyltransferase (GGT), além do perfil lipídico (GOBATO et al., 2014).

Sabendo-se que as plantas medicinais podem ter potencial efeito tóxico e ainda que não haja estudos publicados até o momento sobre a toxicidade da *Himatanthus lancifolius*, este trabalho teve como objetivo estudar possíveis efeitos hepatotóxicos do extrato desta planta em diferentes concentrações, em roedoras Wistar expostas experimentalmente.

Métodos

Trata-se de uma pesquisa exploratória, realizada no biotério do Instituto Metropolitano de Ensino Superior (IMES). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob protocolo nº 02.003.14.

Para a identificação botânica, foi realizada confecção da exsicata. As amostras de *Himatanthus lancifolius* foram recolhidas em período de floração, e os ramos com flores coletados, foram estendidos e colocados em papel absorvente e, em seguida, pressionados entre placas de papel. Posteriormente, foram amarrados, e informações sobre coleta e a localização da planta foram descritas em um rótulo seguido juntamente com a amostra. O material foi enviado ao doutor Adriano Brilhante Kury, especialista em plantas do bioma brasileiro.

Para o estudo dos compostos fitoquímicos, foi utilizado o Manual para Análises Fitoquímicas e Cromatográficas dos Extratos Vegetais do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará (BARBOSA, 2011).

Para realização do ensaio biológico, foram utilizadas 24 roedoras, da linhagem Wistar, com aproximadamente 120 dias de vida. Durante 45 dias de experimento, os animais foram alojados, aclimatados e mantidos em quatro grupos experimentais, sendo um grupo controle (GC) exposto à água filtrada e os outros três a diferentes concentrações de extrato: grupo 1 - G1 (0,05 g/mL), grupo 2 - G2 (0,1 g/mL) e grupo 3 - G3 (0,2 g/mL).

A técnica de produção do extrato foi realizada com base em cálculos anteriormente estabelecidos, considerando informações prévias sobre a quantidade

normalmente utilizada da planta em relação a um ser humano de 60 kg. Após teste piloto de uma semana procedeu-se ao experimento. Foi realizado controle da alimentação e do consumo de água diariamente, mediante anotações e tabulações em Excel e controle de peso semanal.

Em relação aos dados estatísticos foram utilizados os testes de Analysis of Variance (ANOVA), Tukey e Desvio Standard (DS). O teste de ANOVA é utilizado na comparação entre os grupos (PAESE, CATEN, RIBEIRO, 2001), e na determinação dos grupos estatisticamente diferentes, e em seguida, os resultados foram submetidos ao teste de Tukey, utilizado na comparação de contrastes entre duas médias nos respectivos tratamentos e baseado na amplitude total estudentizada (studentized range) (PIMENTEL-GOMES, 2000). O DS é uma medida de dispersão, significando a variabilidade das observações em relação à média encontrada (LUNET, SEVERO, BARROS, 2006).

Para anestesia e posterior eutanásia dos animais, aplicou-se intraperitoneal 0,1 mL de Quetamina e 0,3 mL de Xilazina por animal.

Para a análise bioquímica, após sedação dos animais, coletou-se sangue, no momento da contenção, por punção cardíaca, armazenando-os em tubos de teste com heparina para prevenir a coagulação e hemólise. O soro sanguíneo foi levado ao Laboratório de Análise Clínica da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, para quantificação de AST, ALT, FA, colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos (TG). O equipamento utilizado foi o Labmax Pleno, analisador aleatório automático.

Após a extração de sangue e a eutanásia, os fígados foram removidos, pesados e examinados macroscopicamente. Fragmentos do órgão foram coletados e mantidos refrigerados até a posterior manipulação. As amostras histológicas foram processadas por técnica de inclusão em parafina, cortadas, coradas e examinadas sob microscópio de luz (Olympus BX-60®, Tokio, Japão). A documentação fotográfica foi realizada utilizando-se de um fotomicroscópio (Olympus AX70 TRF) e um banco de imagens foi produzido para posterior análise e registro.

Resultados

O perfil fitoquímico do extrato aquoso de *Himatanthus lancifolius* foi positivo

para os testes de identificação de açúcares redutores, glicosídeos cianogênicos, fenóis, taninos, flavonóis e alcaloides.

Em relação às considerações gerais sobre os animais, os que integraram G2 (0,1 g/mL) apresentaram alterações na pelagem, assim como a maioria dos animais do G3, a pelagem tornou-se eriçada e espessa. Tanto os animais do GC, quanto os animais do G1, G2 e G3, apresentaram movimento circular e passo contínuo, com exceção de dois animais do GC e um do G2. As roedoras do G1, G2 e G3 mostraram manifestações de dor abdominal e contorções, principalmente nos primeiros sete dias do tratamento. No G2 e G3, todos os animais apresentaram diminuição na consistência das fezes, principalmente na segunda e terceira semanas de tratamento. No GC e G1, 50% dos animais tiveram esta mesma alteração, que se manteve por menos tempo.

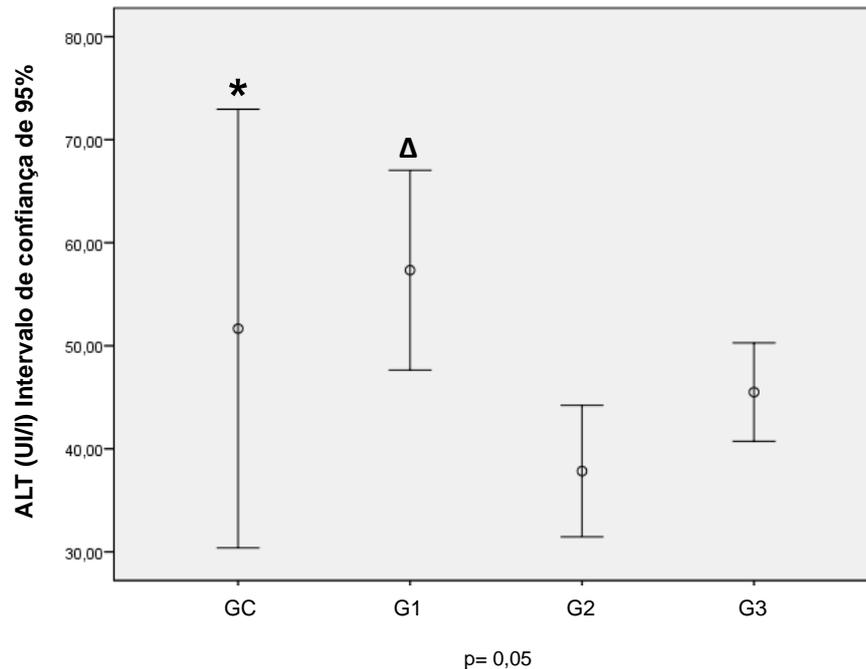
De acordo com a distribuição aleatória, os animais foram pesados no início e no final do estudo. Nos animais não expostos ao extrato, o peso médio no início do estudo foi de 242 g \pm 0,02 enquanto que após o período de tratamento pesavam em média de 12 g a menos. Nos animais do G1 (0,05 g/mL), o peso médio no início do estudo foi de 235 g \pm 0,01, mantendo-se a mesma média após o tratamento. Nos do G2 (0,1 g/mL), o peso médio no início do estudo foi de 255 g \pm 0,01, e ao final do tratamento pesavam em média 15 g a menos. Nos do G3 (0,2 g/mL), o peso médio no início do estudo foi de 250 g \pm 0,01, e ao final pesavam em média 50 g a menos. Foi encontrada uma diminuição estatisticamente significativa ($p= 0,006$) entre o peso ao final do experimento nos grupos GC, G2 (0,1 g/mL) e G3 (0,2 g/mL).

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa no consumo de água entre os grupos ($p= 0,666$). Porém uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada no consumo de ração dos grupos experimentais ($p= 0,039$), havendo uma maior redução no consumo do G2 (0,2 g/mL).

Observou-se uma diminuição estatisticamente significativa nos níveis séricos de ALT entre roedoras expostas e não expostas ao tratamento ($p= 0,043$) (Figura 1). Quando o teste de Tukey foi aplicado, encontrou-se uma diminuição estatisticamente significativa dos níveis séricos de ALT no G2 (0,1 g/mL) comparado ao G1 (0,05 g/mL) ($p= 0,043$).

Não houve diferenças estatisticamente significativas em relação aos valores séricos de AST entre os grupos expostos e não expostos ao extrato ($p= 0,701$).

Figura 1 - Comparação dos valores de ALT nos grupos experimentais. GC – Grupo controle; G1 – 0,05 g/mL; G2 - 0,1 g/mL; G3 – 0,2 g/mL. *: Diferença estatisticamente significativa do GC para os tratados. Δ: Diferença estatisticamente significativa do G1 para o G2.

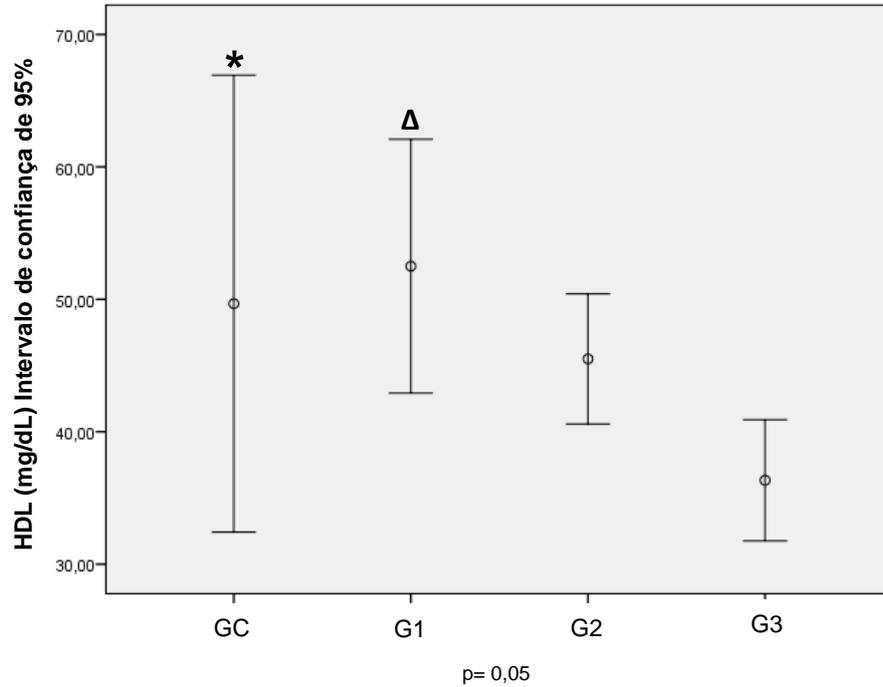


Observou-se uma diminuição dos valores de FA, com o aumento da dose do extrato, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa entre os grupos expostos e não exposto ($p= 0,122$).

Na avaliação dos lípidos, com relação ao CT, não houve diferença estatisticamente significativa ($p= 0,260$).

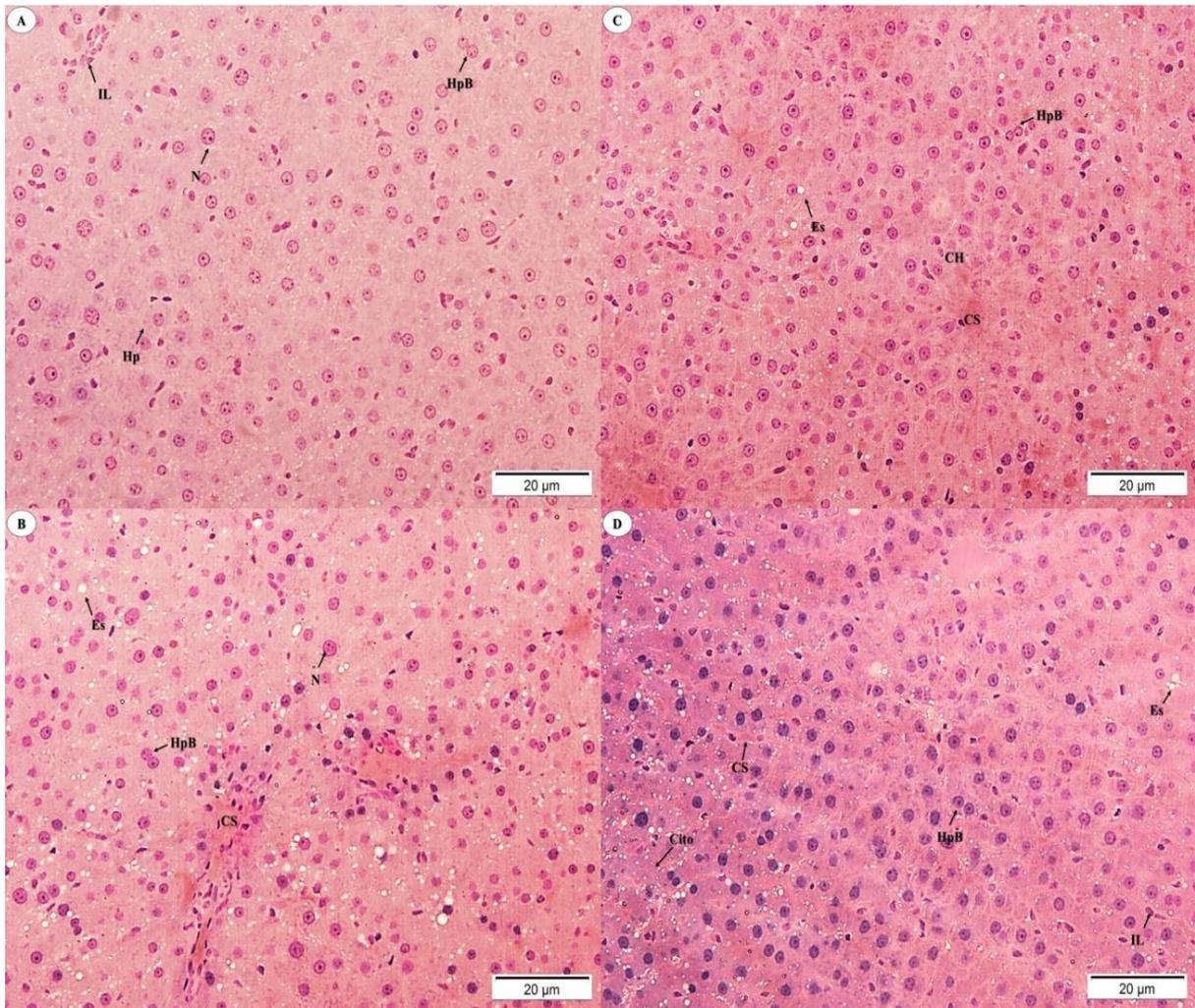
O valor sérico médio de HDL nas roedoras do GC foi de $49,6 \text{ UI/mL} \pm 16,4$; no G1 foi de $52,5 \text{ UI/mL} \pm 9,1$; no G2 foi de $45,5 \text{ UI/mL} \pm 4,7$ e no G3 foi de $36,3 \text{ UI/mL} \pm 4,4$. Foi encontrada uma diminuição estatisticamente significativa nos níveis séricos de HDL das roedoras expostas e não expostas ao tratamento ($p= 0,05$). Quando realizado o teste confirmatório de Tukey, verificou-se que essa diferença significativa se fazia no grupo G1 (0,05 g/mL) em relação ao G3 (0,02 g/mL) ($p= 0,05$) (Figura 2).

Figura 2 - Comparação dos valores de HDL nos grupos experimentais. GC – Grupo controle; G1 – 0,05 g/mL; G2 - 0,1 g/mL; G3 – 0,2 g/mL. *: Diferença estatisticamente significativa do GC para G1, G2, G3. Δ : Diferença estatisticamente significativa do G1 para o G3.



O estudo histológico das amostras de fígado dos animais expostos e não expostos, evidenciou-se hepatócitos mono e binucleares, infiltrados leucocitários, capilares sanguíneos e a morfologia citoplasmática celular. Nos animais tratados com extrato evidenciaram-se características de esteatose (Figura 3).

Figura 3 - Fotomicrografias da organização estrutural de amostras do fígado de roedoras Wistar utilizadas no presente experimento, submetidas ou não à exposição ao extrato de *Himatanthus lancifolius*, em diferentes concentrações. Técnica de coloração Hematoxilina-eosina. **A** – GC: Observaram-se infiltrados leucocitários (IL); núcleos de hepatócitos morfologicamente normais (N); hepatócitos binucleares (HpB). **B** – G1: Observaram-se núcleos de hepatócitos morfologicamente normais (N); hepatócitos binucleares (HpB); vacúolos sugestivos de esteatose (Es) e capilares sanguíneos (Cs). **C** – G2: Observaram-se hepatócitos binucleares (HpB); vacúolos sugestivos de esteatose (Es); capilares sanguíneos (Cs); cordão de hepatócitos (CH). **D** – G3: Observaram-se hepatócitos binucleares (HpB); vacúolos sugestivos de esteatose (Es); capilares sanguíneos (Cs); citoplasma (Cito).



Em geral, as variáveis hepatócitos mononucleares ($p= 0,0002$), hepatócitos binucleares ($p= 0,002$), número de núcleos ($p= 0,004$) e diâmetro nuclear ($p= 0,05$) apresentaram diferença estatisticamente significativa nos valores.

Houve diminuição estatisticamente significativa: no diâmetro dos núcleos dos hepatócitos no G1 em comparação com o GC ($p= 0,001$); na média de hepatócitos mononucleares ($p= 0,0007$) e no diâmetro do núcleo ($p= 0,0001$) no G2 em comparação com o GC; no diâmetro nuclear ($p= 0,004$) e na média de hepatócitos

binucleares ($p= 0,01$) no G3 em comparação com o GC; na média das células hepáticas mononucleares ($p= 0,05$) e diâmetro nuclear ($p= 0,02$) no G2 em comparação com o G1; na média dos hepatócitos binucleares ($p= 0,007$) e diâmetro nuclear ($p= 0,001$) no G3 em comparação com o G1; na média dos hepatócitos mononucleares ($p= 0,017$) e no diâmetro nuclear ($p= 0,09$) no G2 em comparação com o G3. A Tabela 1 mostra os valores da média, em relação a cada variável morfométrica do tecido hepático das roedoras Wistar utilizadas no estudo.

Tabela 1 – Média dos hepatócitos mononucleares e binucleares e diâmetro nuclear do tecido hepático dos animais no GC e nos grupos tratados com *Himatanthus lancifolius* (G1: 0,05 g/mL, G2: 0,1 g/mL, G3: 0,2 g/mL). HpM: Hepatócitos Mononucleares; HpB: Hepatócitos Binucleares; DN: Diâmetro Nuclear.

Grupos	HpM	HpB	DN
GC	38,35	5,67	51,72
G1	38,83	5,80	49,60
G2	27,18	3,98	35,27
G3	34,85	3,20	41,22

Discussão

A farmacocinética é responsável por estudar o percurso e as inter-relações de uma droga com a estrutura alvo, estabelecendo sua janela terapêutica, ou seja, a dose necessária para que um tratamento seja eficaz. Fármacos prescritos em subdoses podem não exercer seu real efeito terapêutico, enquanto que em sobredoses, há grandes chances de provocarem toxicidade (NEVES, SILVA, JUNIOR, 2018). Segundo o estudo “Segurança do paciente e o valor da intervenção farmacêutica em um hospital oncológico”, 35% das prescrições são subdoses e 29% são sobredoses (AGUIAR et al., 2018).

Na busca de tratamentos alternativos, o uso de plantas medicinais e fitoterápicos representa um dos principais recursos da Medicina Complementar (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2016). Dentre as espécies utilizadas para esse fim, a *Himatanthus lancifolius*, conhecida popularmente como “agoniada”, é empregada de forma empírica, principalmente no tratamento de dismenorreia (BARATTO et al., 2010), porém sabe-se pouco sobre seus potenciais efeitos tóxicos, sobretudo no

fígado, o que foi o objetivo do presente experimento.

O fígado, dentre outras funções, atua nos processos de degradação de ácidos graxos, síntese de triglicerídeos, colesterol e fosfolípidos (HALL, GUYTON, 2017), e é o principal órgão responsável pela metabolização e excreção de substâncias que possam levar a citotoxicidade do organismo. Nesse contexto, é provável que alguns fitoterápicos provoquem alterações hepáticas, assim como é o caso dos fármacos potencialmente hepatotóxicos.

Neste estudo, dentre os componentes químicos identificados no extrato da *Himatanthus lancifolius*, destacam-se os glicosídeos cianogênicos, compostos fenólicos e alcaloides.

Os glicosídeos cianogênicos, após hidrólise, liberam ácido cianídrico (AMORIM, MEDEIROS, RIET-CORREA, 2006) que inibe o metabolismo oxidativo do Ciclo de Krebs e resulta em interrupção da respiração celular. Diante deste quadro de hipóxia, espera-se um aumento da síntese de ácidos graxos, devido ao excesso de Acetil-CoA (BRASILEIRO FILHO, 2017), o que pode ser responsável pelo processo de esteatose (MELO et al., 2008). Em concordância com Melo (2008), verificou-se nos três grupos tratados com extrato da “agoniada”, quadro sugestivo de acúmulo de gordura nas células hepáticas.

Em processos esteatóticos, devido ao seu fator irritativo e padrão progressivo, primeiramente ocorre o depósito de gordura nos hepatócitos e consequente inflamação, com posterior evolução para lesão, fibrose, cirrose ou até carcinoma hepatocelular. Logo, as alterações morfológicas precedem a elevação das enzimas AST e ALT (SILVA, 2017). De acordo com esta cronologia de eventos, a ocorrência de esteatose na ausência de elevação das enzimas hepáticas, neste estudo, pode sugerir que o tempo de pesquisa foi insuficiente para demonstrar tais alterações enzimáticas.

Neste experimento, porém, encontrou-se uma redução estatisticamente significativa de ALT no G1 em comparação com o G2, o que pode sugerir que, em baixas concentrações, o extrato desta planta não cause toxicidade.

Em um estudo realizado por Acharezzi et al. (2015), com a administração do chá de *Ayahuasca* em roedores, observaram-se alterações nos parâmetros morfométricos dos hepatócitos, como redução do volume celular e de seu núcleo, apesar de não haver evidências bioquímicas de lesão hepática. No presente experimento, com a administração do extrato de *Himatanthus lancifolius*, a

morfometria evidenciou diminuição do número de hepatócitos mononucleares e binucleares, assim como redução de diâmetro nuclear nos grupos experimentados em relação ao controle, e imagem histológica sugestiva de esteatose, que culmina em um aumento do volume dos hepatócitos por depósito de lipídios intracelulares e diminuição da relação núcleo/citoplasma. No entanto, as alterações morfométricas não foram diretamente proporcionais ao aumento da concentração do extrato administrado aos animais.

Em relação às concentrações de lipídios, observou-se redução do HDL e o CT manteve-se inalterado, o que nos leva a deduzir que houve aumento da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL), de acordo com a fórmula clássica de Friedewald: $LDL = CT - HDL - TG / 5$ (FALUDI et al., 2017). Diante disso, infere-se que o uso da *Himatanthus lancifolius*, pode aumentar eventos cardiovasculares e cerebrovasculares em seus usuários, já que o aumento do LDL tem relação direta com a formação e progressão da placa aterosclerótica (FALUDI et al., 2017). A observação de tal resultado é de grande importância, já que as Doenças Cardiovasculares são as principais responsáveis pela mortalidade dos portadores de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (GOMES, 2017).

Além disso, nas mulheres, que são o principal público consumidor da “agoniada”, há diminuição fisiológica do estrogênio com o passar dos anos, o que acaba acarretando uma redução do HDL no final da vida reprodutiva. Somando-se a um possível uso crônico do extrato desta planta para tratamento de cólicas menstruais, por exemplo, poderia ocasionar redução considerável do HDL, que tem efeito protetor contra a aterogênese (FALUDI et al., 2017), o que teoricamente contribuiria para o incremento do risco de morbimortalidade por eventos cardiovasculares (FALUDI et al., 2017).

Com relação à massa corporal, os roedores do GC, G2 e G3 apresentaram redução estatisticamente significativa de peso. Somado a isso, foi observado no G2 e G3, redução na consistência das fezes de forma mais evidente que nos demais grupos, possivelmente resultado da maior concentração do extrato administrado. Tais alterações podem ser justificadas pela presença de compostos fenólicos no extrato, que de acordo com Dorman e Deans (2000) apresentam propriedades bactericidas sobre bactérias Gram negativas e modificam a microbiota intestinal. A presença de alcaloides, por sua vez, pode ter corroborado com estas alterações ponderais, dado que segundo Baratto et al. (2010) os alcaloides possuem, dentre

outras funções, atividade antimicrobiana e efeito laxativo.

Além disso, segundo McCall et al. (2009), os fenóis podem afetar a barreira epitelial do intestino e aumentar sua permeabilidade. Estas duas hipóteses poderiam justificar a ocorrência de diarreia, na qual há aumento do trânsito enteral e, conseqüentemente, redução da absorção de nutrientes, sendo esta uma possível explicação para a perda de peso observada no experimento.

A respeito da perda de peso no GC, uma possível justificativa seria o estresse, que também pode ter contribuído para tal alteração no G2 e G3. Assim como a piloereção, passo contínuo e movimento circular observados nos animais, que podem ter a mesma causa (ANDRADE, PINTO, OLIVEIRA, 2002).

Conclusão

De acordo com os resultados do presente experimento, não foram encontrados marcadores bioquímicos suficientes para comprovar lesão hepática, entretanto a avaliação histológica foi sugestiva de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica nos grupos expostos ao extrato. Estes fatos combinados devem-se, provavelmente, ao curto período de exposição dos animais ao extrato.

Observou-se redução do HDL no G1 e G2, o que infere aumento do LDL, sendo esta fração do colesterol responsável pela formação de placas ateromatosas, relacionadas diretamente com ocorrência de eventos cardiovasculares, com elevada taxa de morbimortalidade. Além disso, a redução de peso constatada foi possivelmente por alteração da microbiota intestinal, que pode afetar o processo de absorção entérica e levar a um quadro de diarreia.

Conclui-se que são necessários mais estudos, com maior tempo de exposição à *Himatanthus lancifolius*, para resultados mais aprofundados.

Agradecimentos

À Instituição Unileste, pela disponibilidade de espaço e recursos para o desenvolvimento inicial deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa por nos proporcionar acesso ao Departamento de Morfologia.

Ao IMES, especialmente ao Laboratório IV e seu competente grupo técnico, pelo trabalho que realizamos em equipe.

À nossa orientadora Dr^a. Jaqueline Melo, pelo suporte contínuo, paciente trabalho de revisão e empenho dedicado à realização deste projeto.

Ao professor coorientador Dr. Leonardo Ramos Paes de Lima pela oportunidade proporcionada e pelo apoio e orientações na construção deste trabalho.

TOXICOLOGICAL STUDY IN WISTAR LINE RODENTS TREATED WITH *Himatanthus lancifolius*

Abstract

Introduction: The use of plants for the treatment of diseases is an ancient practice, used until the present day, naturally or in the form of herbal medicines. *Himatanthus lancifolius*, popularly known as "Agoniada" (agonized), is mainly used to treat menstrual irregularities, pains and uterine spasms. However, the indiscriminate use of herbal medicines can have serious health consequences, such as liver damage. **Objective:** To identify possible toxic effects in rodents exposed to different concentrations of *Himatanthus lancifolius* extract. **Methods:** Phytochemical analyzes of the plant were carried out, following the Manual of Phytochemistry and Vegetable Chromatography for the knowledge of the compounds. In the biological assay, 24 Wistar animals were used, with an average weight of 210 g and divided into four experimental groups. One control and another three were exposed to different concentrations of extract for 45 days: G1 (0,05 g/mL) G2 (0,1 g/mL) and G3 (0,2 g/mL). Control of the interval of time, water, feeding and weight of each animal was carried out. After euthanasia, blood samples were collected for biochemical tests and liver samples for histological analysis. Statistical data were analyzed using ANOVA, Tukey and Standard Deviation (SD). **Results:** A statistically significant decrease was observed: weight ($p= 0.006$) in GC, G2 and G3; ALT ($p= 0.043$) in G1 compared to G2; HDL ($p= 0.05$) between the extract and untreated groups. In relation to the histology, cellular alterations compatible with fatty degeneration of the liver were verified in the three groups exposed to the extract. **Conclusion:** The reduction of HDL in G1 and G2 infers elevated LDL, associated with increased cardiovascular risk. The decrease in weight may be related to the alteration of the intestinal microbiota, which affects the enteric absorption process and causes diarrhea. The histological evaluation was suggestive of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease for the groups with higher dosage of the extract, and G1 was shown to be within a safe dosage, however, biochemical markers were not found sufficient to prove hepatic injury, probably due to the duration of the experiment.

Keywords: Histopathology. Phytotherapeutic Medications. Hepatic Steatosis.

Referências

ACHAREZZI, B.; TANGERINO, G. C.; SPERANDIO, L. G. Avaliação hepática em ratos Wistar expostos ao chá de *Ayahuasca*. *Saúde e Pesquisa*, Maringá, v. 8, n. 3, p. 423-430, 2015.

AGUIAR, K. S.; SANTOS, J. M.; CAMBUSSI, M. C.; PICOLOTTO, S. CARNEIRO, M. B. Segurança do paciente e o valor da intervenção farmacêutica em um hospital oncológico. *Einstein – Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein*, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 1-7, 2018.

AMORIM, S. L.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F. Intoxicações por plantas cianogênicas no Brasil. *Ciência Animal*, Patos, v. 16, n. 1, p. 17-26, 2006.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. *Animais de Laboratório: criação e experimentação*. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002.

BARATTO, L. C.; HOHLEMWERGER, S. V. A.; GUEDES, M. L. S.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M. *Himatanthus lancifolius* (Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae: estudo farmacobotânico de uma planta medicinal da Farmacopeia brasileira 1ª edição. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 20, n. 5, p. 651-658, 2010.

BARBOSA, W. L. R. Manual para análise Fitoquímica e Cromatográfica de extratos vegetais. *Revista Científica da UFPA*, Belém, 2011.

BARROS, P. M. S. S.; COUTO, N. M. G.; SILVA, A. S. B.; BARBOSA, W. L. Development and Validation of a Method for the Quantification of an Alkaloid Fraction of *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson by Ultraviolet Spectroscopy. *Journal of Chemistry*, London, v. 2013, p. 1-5, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica*. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica n. 31. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRASILEIRO FILHO, G. *Bogliolo Patologia*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

CACCIA-BAVA, M. C. G. G.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S.; MARTINEZ, E. Z. Disponibilidade de medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais nas unidades de atenção básica do Estado de São Paulo: resultados do Programa Nacional de

Melhoria do Acesso e da Qualidade da Atenção Básica. *Ciência e Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 22, n. 5, p. 1651-1659, 2017.

CORTEZ, L.C.; JEUKENS, M. M. F. Fitoterápicos na atenção primária à saúde: revisão da literatura. *Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo*, São Paulo, v. 3, n. 62, p. 150-155, 2017.

DORMAN, H. J. D.; DEANS S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, South Ayrshire, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

FALUDI, A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, São Paulo, v. 109, n. 2, supl. 1, p. 1-76, 2017.

FRANÇA, O. O.; BROWN, R. T.; SANTOS, C. A. M. Oleine and demethoxyaspidospermine from the bark of *Plumeria lancifolia*. *Fitoterapia*, Curitiba, v. 71, n.2, p. 208-210, 2000.

GOBATO, A. O.; VASQUES, A. C. J.; YAMADA, R. M.; ZAMBON, M. P.; BARROS-FILHO, A. A.; HESSEL, G. Indicadores bioquímicos, antropométricos e de composição corporal como preditores da esteatose hepática em adolescentes obesos. *Revista Paulista de Pediatria*, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 230-236, 2014.

GOMES, G. D. S.; ARAÚJO, A. T. V. Avaliação do risco cardiovascular global de pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica em um hospital universitário. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. *Guyton & Hall Tratado de Fisiologia Médica*. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

LOPES, J. F. *Ioimbina e uleína isolados de Himatanthus lancifolius (Muell.-Arg.) Woodson, Apocynaceae*. 2008. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LUNET, N.; SEVERO, M.; BARROS, H. Desvio padrão ou erro padrão. *Arquivos de Medicina*, Porto, v. 20, n. 1-2, p. 55-59, 2006.

MATOS, L. C. Fígado gordo não alcoólico: Revisão da Literatura. *Gazeta Médica, Carnaxide*, v. 4., n. 1, p. 43-49, 2017.

MCCALL, I. C.; BETANZOS, A.; WEBER, D. A.; NAVA, P.; MILLER, G. W.; PARKOS, C. A. Effects of phenol on barrier function of a human intestinal epithelial cell line correlate with altered tight junction protein localization. *Toxicology and Applied Pharmacology*, Atlanta, v. 241, n. 1, p. 61-70, 2009.

MELO FILHO, J. S.; VERÁS, M. L. M; MELO, U. A.; ALVES, L. S.; MARACAJÁ, P. B. O etnoconhecimento das plantas medicinais no município de Catolé do Rocha – PB. *Revista Terceiro Incluído, Goiânia*, v.6, n.1, p. 129-137, 2016.

MELO, D. S.; CORRÊA, A. D.; MARCOS, F. C. A.; SOUSA, R. V.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a atividade das enzimas AST, ALT, FA e lipídios hepáticos de ratos Wistar. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28 (supl.), p. 32-37, 2008.

NASCIMENTO JUNIOR, B. J.; TÍNEL, L. O.; SILVA, E. S.; RODRIGUES, L. A.; FREITAS, T. O. N.; NUNES, X. P.; AMORIM, E. L. C. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 57-66, 2016.

NEVES, E. A. O.; SILVA, N. C. H.; COSTA JUNIOR, C. E. O. Idosos, automedicação e o risco da interação medicamentosa: uma breve discussão a partir da literatura. *Cadernos de Graduação – Ciências Biológicas e de Saúde*, Recife, v. 3, n. 3, p. 71-82, 2018.

PAESE, C.; CATEN, C.; RIBEIRO, J. L. D. Aplicação da análise de variância na implantação do CEP. *Revista Produção*, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 17-26, 2001.

PIMENTEL-GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 14. ed. Piracicaba: Editora da Universidade de São Paulo, 2000.

PINTO, C. G. S.; MAREGA, M.; CARMONA, F. G.; D'ÁUREA, C.; CARVALHO, J. A. M.; FIGUEIRA JUNIOR, A. Esteatose Hepática e Estilo de Vida Ativo: Revisão de Literatura. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, Distrito Federal, v. 20, n. 3, p: 125-134, 2012.

SILVA, R. R. P. Efeito protetor do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) na doença hepática gordurosa não alcoólica mediado pelo aumento dos níveis de paraoxonase-1 e

redução da oxidação de LDL em ratos. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

SOUZA, A. F. M. Hepatotoxicidade por Chás. *Revista Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva Alta da Sociedade Brasileira de Hepatologia*, v. 30, supl. 1, p. 22-24, 2011.