

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE CRÔNICA E GESTACIONAL DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Buchenavia* sp., EM RATAS WISTAR

[Assessment of chronic toxicity and gestational ethanol extract of *Buchenavia* sp. In Wistar rats]

Marcos Daniel de Sousa Ferreira¹, Daniela Cristina Pereira Lima¹, Emanuela Ribeiro Moura², Janayna Batista Barbosa de Sousa Muller³, Francisco das Chagas Cardoso Filho¹, Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva¹, Maria do Carmo de Souza Batista¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFPI - Campus Agrícola da Socopo

² Graduação em Medicina Veterinária – UFPI - Campus Agrícola da Socopo

³ Programa de Pós-Graduação em Farmacologia – UFPI - Centro de Ciências da Saúde, Campus Ininga

RESUMO - Com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos tóxicos sistêmicos e reprodutivos do extrato etanólico de *Buchenavia* sp. (EEtOH-B), em ratas e sua prole, foram executados os protocolos gestacionais de pré-implantação, com 8 dias de tratamento, e pós-implantação, com 34 dias de administração, desde o 8º dia gestacional até o desmame e a avaliação da prole, e por fim, o protocolo de toxicidade crônica com 30 dias de tratamento. Em todos os protocolos, as ratas receberam o extrato etanólico nas dosagens de 250, 500 e 1000 mg/kg/dia (n=8/grupo) e para cada protocolo foi instituído um grupo controle (n=8/grupo) no qual foi administrada água destilada (10ml/kg/dia). Os resultados mostram que durante o período de realização dos tratamentos, não foram observados efeitos nocivos significativos ou óbitos que pudessem ser atribuídos ao extrato utilizado. Concluiu-se que o EEtOH-B não induz abortamento em ratas.

Palavras-chave: Toxicidade reprodutiva, mirindiba, pré-implantação, pós-implantação.

ABSTRACT - In order to evaluate the possible systemic and reproductive toxicity of the ethanol extract of *Buchenavia* sp., (EEtOH-B) in rats and their offspring, were executed protocols gestational pre-deployment, with 8 days of treatment, and post-implantation, with 34 days of administration, provided for the 8th gestational day until weaning and evaluation offspring, and finally, the protocol of chronic toxicity with 30 days of treatment. In all protocols, rats received the ethanol extract at doses of 250, 500 and 1000 mg/kg/day (n=8/group) and for each protocol was established as a control group (n=8/group) in which it was administered distilled water (10ml/kg/dia). The results show that during both treatments were not observed any significant adverse effects or deaths that could be attributed to the extract used. It was concluded that the EEtOH-B does not induce abortion in female rats.

Keywords: Reproductive, mirindiba, pre-deployment, post-deployment.

INTRODUÇÃO

A flora brasileira possui uma grande diversidade de espécies e estima-se que os ecossistemas do Brasil compreendem mais de 22% de todas as espécies biológicas de todo o 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).

Sabe-se que muitas destas plantas apresentam substâncias que podem desencadear reações adversas e inúmeros trabalhos científicos têm relatado efeitos tóxicos principalmente sobre o fígado, e em escala menor sobre os rins, sangue, pele, sistema nervoso, cardiovascular e reprodutor, bem como efeitos mutagênicos e carcinogênicos (Soares, 2008).

* Autor para correspondência. E-mail: marcos_daniel_pi@hotmail.com

O número de plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Brasil, vem crescendo consideravelmente. Atualmente, são conhecidas 131 plantas tóxicas pertencentes a 79 gêneros (Pessoa et al., 2013), sendo que na região Nordeste são conhecidas pelo menos 38 destes. *Mascagnia rígida* e *Thiloa glaucocarpa* são consideradas as mais importantes para bovinos, e *Mimosa tenuiflora*, para caprinos e ovinos (Tokarnia et al., 2000, Riet-Correa et al., 2006). Há outras com toxicidade ainda não comprovada experimentalmente, como a *Buchenavia tomentosa* que foi mencionada como possuidora de toxicidade reprodutiva por produtores da Região norte do Piauí (Mello et al., 2010).

As intoxicações por plantas, além de ocasionarem prejuízos econômicos significativos, podem afetar indiretamente seres humanos, pois há risco de contaminação dos alimentos (como, carne, leite e derivados, pescado ou mel) por resíduos de toxinas oriundas de plantas. Portanto, os estudos que possam contribuir para a elucidação de efeitos tóxicos de vegetais revestem-se de importância. Nesta perspectiva, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos tóxicos sistêmicos e reprodutivos do extrato etanólico de *Buchenavia* sp (EEtOH-B), em ratas e sua progênie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios farmacológicos foram conduzidos no período de maio de 2011 a janeiro de 2012 no Biotério de Manutenção de Animais Destinados à Experimentação (BIOMADEX) e Laboratório e Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

A planta *Buchenavia* sp foi coletada no município de Floriano, Estado do Piauí e registrada e armazenada no Herbário Graziela Barroso da UFPI sob o registro TEPB 27.957. Suas cascas foram picadas e dessecadas em uma estufa de circulação forçada de ar a $45 \pm 1^\circ \text{C}$, que foram posteriormente trituradas em moinho elétrico, e submetidas a maceração a frio com etanol 99,6 PA, durante 5 dias à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, realizando-se quatro extrações sucessivas. Após a filtração, foi concentrado utilizando-se um evaporador rotativo a 40°C até a obtenção de um material viscoso e após a evaporação do solvente, foi liofilizado, acondicionado em frascos de vidro âmbar e conservado em geladeira.

Foram utilizadas ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) do BIOMADEX/CCA/UFPI, previamente adaptadas às condições do laboratório por 14 dias e mantidas em ambiente com temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ \text{C}$), com iluminação artificial obedecendo a

um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, com livre acesso a água e ração. O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI, com parecer nº 081/11.

Ao final de cada protocolo experimental, os animais foram eutanasiados por sobredose anestésica (cetamina-50mg/kg e xilazina-3mg/kg), via intraperitoneal, seguindo a recomendação da resolução nº 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV).

Para a avaliação do período pré-implantação, foram utilizadas 32 ratas em período de estro, identificado por meio da coleta de células vaginais através de lavados visualizados a fresco em microscópio ótico, que foram submetidas à cópula, pela colocação de um macho comprovadamente fértil na gaiola da fêmea, durante uma noite. A confirmação da gestação foi dada pela presença de espermatozóides no lavado vaginal na manhã seguinte, sendo este, considerado o primeiro dia da gestação (Muller, 2011). As prenhes foram divididas aleatoriamente em 4 grupos de 8 animais, onde, 3 grupos foram tratados uma vez ao dia com o EEtOH-B, por via oral, nas três diferentes concentrações, e um grupo controle ao qual foi administrado o veículo (água destilada) por via oral, do primeiro ao sétimo dia de prenhez. No oitavo dia de gestação, as progenitoras foram eutanasiadas e foi feita a retirada do útero e dos ovários, e procedida a contagem do número dos sítios de implantação, em ambos os cornos uterinos, e dos corpos lúteos dos ovários direito e esquerdo, com o auxílio de uma lupa, e calculadas as perdas pré-implantes (OECD, 2001), pela fórmula:

PERDAS PRÉ-IMPLANTAÇÃO = $(\text{n}^\circ \text{ de corpos lúteos} - \text{n}^\circ \text{ de implantes} / \text{n}^\circ \text{ de corpos lúteos}) \times 100$.

Já para a avaliação da ação do extrato sobre o período pós-implantação, que engloba o período de tempo compreendido entre o oitavo dia de gestação até o parto (21 ± 1 dias), estendendo-se à fase de lactação, desmame e pré-puberdade da progênie (Mello, 2007), foram utilizadas 32 ratas prenhes divididas aleatoriamente em 4 grupos de 8 animais, sendo 3 tratados uma vez ao dia com o EEtOH-B, por via oral, nas diferentes concentrações, e um grupo controle que recebeu H_2O d, por via oral. As administrações foram iniciadas, no 8º dia de prenhez, sendo interrompidas somente no dia do nascimento da progênie e continuaram do dia seguinte ao parto até o 21º dia de lactação. Para permitir o adequado controle, no 18º dia de prenhez, os animais foram separados e mantidos em gaiolas individuais, inspecionadas duas vezes ao dia, até o parto (Muller, 2007; Muller, 2011). Os índices de parto, de nascimento e viabilidade foram

determinados conforme as fórmulas da US EPA (1996), segundo as quais:

ÍNDICE DE PARTO (IP_%) = (n° de fêmeas que pariram ÷ n° de fêmeas com evidência de prenhez) x 100;

ÍNDICE DE NASCIMENTO (IN_%) = (n° de nativos ÷ n° de filhotes nascidos) x 100;

ÍNDICE DE VIABILIDADE (IV_%) = (n° de filhotes vivos no quarto dia pós-natal ÷ n° de nativos) x 100;

A progênie foi observada duas vezes ao dia, quanto às características de evolução: surgimento de pelos, abertura palpebral bilateral e deslocamento do pavilhão auricular, de acordo com Mello (2007).

Para a Avaliação da toxicidade crônica do extrato, foram utilizadas 32 ratas Wistar, pesando entre 180-250g, divididas aleatoriamente em 4 grupos de 8 animais, sendo 3 grupos tratados, uma vez ao dia, com o EEtOH-B, por via oral nas diferentes concentrações, e um grupo controle que recebeu água destilada, por via oral. Todas as ratas foram examinadas diariamente, durante 30 dias.

Ao final do tratamento, as ratas foram anestesiadas (associação de 50mg/kg de ketamina com 5mg/kg de xilazina, intraperitoneal) e o sangue foi coletado, por meio de punção cardíaca, em tubos de ensaio sem anticoagulante e, em seguida, foram eutanasiadas, por excesso anestésico, para a coleta e avaliação dos órgãos internos. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos e o soro separado. As determinações bioquímicas foram realizadas por química úmida com Kits reagentes (Labtest®, Belo Horizonte). Foram avaliados os seguintes parâmetros séricos: transaminases AST e ALT, creatinina e uréia.

Tabela 1 – Registro do número de corpos lúteos, implantações e perdas pré-implantação de progenitoras expostas ao EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral) e controle (água destilada, oral), no período de pré-implantação.

Variáveis	Controle	Tratamentos com EEtOH-B, oral		
		250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Corpos lúteos	10 ± 0,68	10,12 ± 0,78	10,25 ± 0,41	11,62 ± 0,26
Implantações	9 ± 0,68	9,25 ± 0,81	9 ± 0,37	10,25 ± 0,36
Perdas pré-implantes (%)	10,37 ± 1,01	9,25 ± 3,13	12,12 ± 2,26	12,87 ± 2,76

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

Apenas as fêmeas do grupo tratado com 1000 mg/kg do EEtOH apresentaram menor ganho de peso quando comparado ao grupo controle do Protocolo Pré-implantação, como pode ser observado na Tabela 2. Não foram observadas, nas ratas desse protocolo, alterações comportamentais, nem outras alterações que pudessem sinalizar

Os órgãos coletados foram pesados, seccionados e fixados em formalina tamponada. Após 24 horas de fixação as amostras foram submetidas ao processamento histológico, composto de desidratação em séries crescentes de álcool (70 a 100%), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina. Os fragmentos tissulares foram seccionados, em micrótomo, na espessura de 5,0 µm e subsequentemente submetidos a coloração com hematoxilina-eosina e examinados ao microscópio de luz, de acordo com Bacha e Wood (1990).

As secções dos ovários foram usadas para quantificar o número de folículos primários, secundários e maduros (Roop et al., 2005)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aparecimento de efeitos embriofetotóxicos induzidos por substâncias diversas pode resultar da interação destas com outros fatores que incidem no conjunto mãe-placenta-feto, interferindo no estado nutricional (Mello, 2007). A exposição de fêmeas grávidas a agentes químicos permite observar as prováveis consequências funcionais por eles induzidas, sobre os órgãos reprodutivos (US EPA, 1996). A taxa de perdas pré-implantação constitui a relação entre o número de oócitos liberados e aqueles que depois de fecundados não conseguiram ser implantados no útero (Almeida & Lemônica, 2000). Quanto à contagem do número de corpos lúteos, de implantações e do cálculo das perdas pré-implantação das ratas tratadas, verificou-se que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testes e o grupo controle. Com isso, os resultados apontaram a não interferência dos tratamentos com EEtOH-B, nas concentrações testadas, a exemplo do grupo controle, nos padrões de desenvolvimento da fase pré-implantação (Tabela 1).

alguma injúria ocasionada pelo extrato. Essa perda no ganho de massa corporal, induzida pela maior dose, ao longo da gestação, pode ser atribuída a uma possível toxicidade materna desenvolvida pelo extrato em acarretar restrição no crescimento intra-uterino, o que pode prejudicar o desenvolvimento da prole (Lyra et al., 2005).

Tabela 2 – Ganho de peso de ratas Wistar, no decorrer do período pré-implantação, tratadas com o EEtOH-B (250, 500 e 1000mg/kg, oral) e controle (água destilada, oral).

Ganho de Peso Ciclo Estral (g)	
Grupos	2ª semana
250 mg/Kg (n=8)	8,75 ± 0,25 ab
500 mg/kg (n=8)	7,87 ± 0,76 ab
1000 mg/kg (n=8)	7,62 ± 0,49 b
Controle (n=8)	9,75 ± 0,31 a

Os dados expressam média (± EPM). Grupos tratados *versus* grupo controle ^{a,b,c} p>0,05. (ANOVA / Tukey), n=8.

Variações no tempo de gestação podem ser indicativas de alterações em processos bioquímicos, pois ao final do período gestacional, os níveis de estrogênios se elevam e há um decréscimo nos teores de progesterona. Os estrogênios iniciam o aumento da sensibilidade do miométrio à ocitocina através da indução de seus receptores e também atuam elevando a produção de prostaglandinas, podendo, com isso, abreviar o tempo gestacional (Wischnal et al., 2001; Mello, 2007; Brolio et al., 2010).

O número de dias da gestação, o índice de partos, o número de filhotes nascidos vivos e os que

sobreviveram até o quarto dia, não diferiram significativamente entre os grupos tratados e o grupo controle, o que sugere que o EEtOH-B, nas doses avaliadas, não apresentou toxicidade quanto ao desenvolvimento pré-natal e que o mesmo não induziu toxicidade nas progenitoras (Tabela 3).

A exposição durante a lactação também não provocou efeitos adversos sobre o desenvolvimento geral dos descendentes, período para o descolamento dos pavilhões auriculares, abertura dos olhos, aparecimento de pêlos dos grupos tratados, quando comparados com o grupo controle.

Tabela 3 – Duração da prenhez (em dias), Índice de partos, número de filhotes vivos até o 4º dia pós-natal das progenitoras expostas ao EEtOH-B no período pós-implantação e desenvolvimento dos filhotes. Os animais foram assim tratados: controle (água destilada, oral) e EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral).

Variáveis	Controle	Tratamentos com EEtOH, oral		
		250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Dias de gestação	21,87	21,87	21,87	22,00
IP (%)	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
Número de filhotes	8,37 ± 0,3238	9,12 ± 0,7661	9,62 ± 0,7544	9,37 ± 0,8438
IN (%)	100 ± 0	97,87 ± 2,12	100 ± 0	84,68 ± 12,23
IV (%)	100 ± 0	97,87 ± 2,12	100 ± 0	84,68 ± 12,23
	Parâmetros de Desenvolvimento (dias)			
Nascimento de pêlos	6,62 ± 0,18	6,87 ± 0,29	6,00 ± 0,00	6,25 ± 0,97
Deslocamento das orelhas	6,75 ± 0,31	9,62 ± 0,37	12,25 ± 1,37	9,00 ± 1,61
Abertura das pálpebras	14,37 ± 0,18	14,25 ± 0,36	14,75 ± 0,16	12,12 ± 1,77

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

No período do nascimento ao desmame, o ganho de massa corporal da progênie, apresentou diferenças significativas na segunda e quarta pesagem, sendo que os animais provenientes das progenitoras do grupo controle (água destilada, v.o.) mostraram o melhor desempenho (Gráfico 1). É conveniente lembrar que a progênie alimenta-se estritamente de leite materno até meados da segunda semana pós-natal, e só a partir de então já consegue se alimentar também da ração de suas progenitoras, reduzindo mais ainda os níveis de exposição ao extrato (Mello, 2007).

Os sinais de intoxicação sistêmica foram avaliados a partir da redução da massa corporal dos animais,

de alterações comportamentais, apatias e outras manifestações que poderiam sinalizar uma injúria hepática, por exemplo. O ganho de massa corporal das ratas expostas aos tratamentos, em todos os esquemas de administração, observadas no período de 30 dias, pode ser observado no Gráfico 2.

Observou-se que as ratas tratadas com o veículo apresentaram ganho de peso ascendente. O grupo que recebeu o EEtOH-B 250mg/kg apresentou-se constante e em seguida houve aumento em sua massa corporal, enquanto que as ratas tratadas com o EEtOH-B 500 e 1000mg/kg apresentaram uma queda em suas massas corporais, durante o experimento.

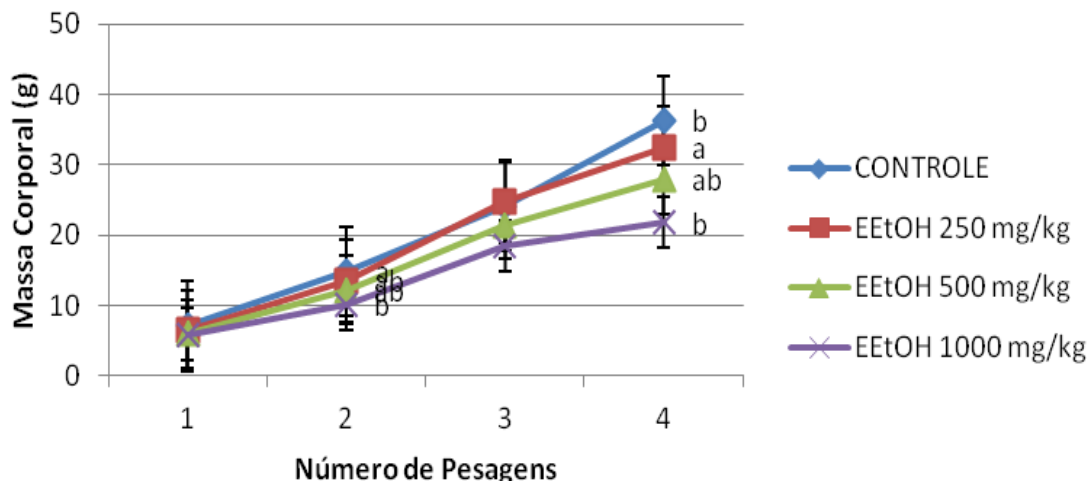


Gráfico 1 – Evolução ponderal da progênie de ratas expostas ao tratamento com EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral) e controle (água destilada, oral), no período pós-implantação. Os dados expressam média (\pm EPM). Grupos tratados *versus* grupo controle ^{a,b} $p > 0,05$ (ANOVA / Tukey), $n=8$.

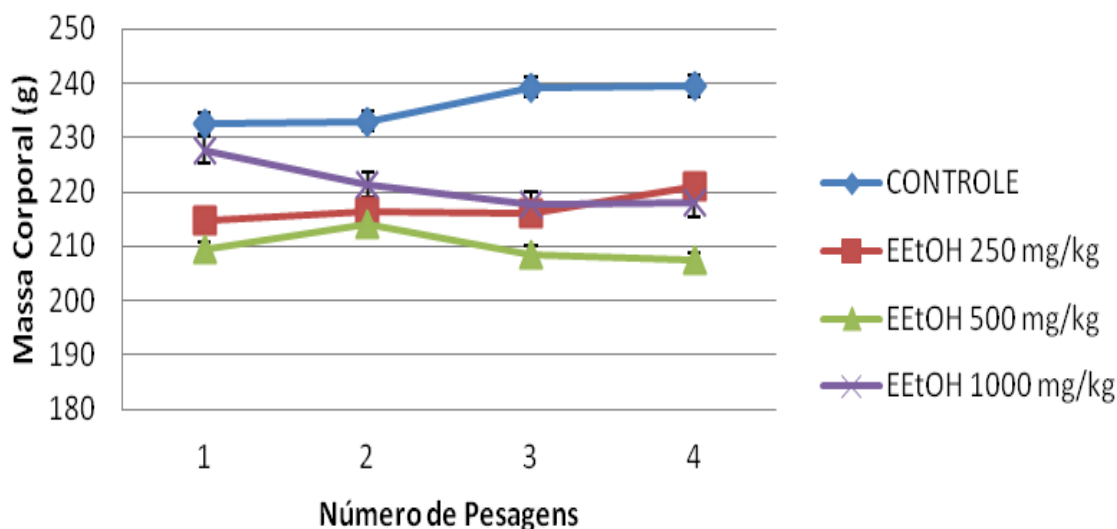


Gráfico 2 – Evolução ponderal de ratas expostas ao tratamento com EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral) e controle (água destilada, oral), durante 30 dias. Os dados expressam média (\pm EPM). $n=8$.

Neste experimento, as massas relativas dos órgãos útero e ovários e fígado das ratas expostas ao EEtOH-B, nas diferentes concentrações, não diferiram do grupo controle. Não foram observadas alterações macroscópicas nestes órgãos, indicando, também, ausência de toxicidade materna para as doses investigadas. Da mesma forma, sinais visíveis de toxicidade nas ratas, como: anorexia, tremores, diarreia, piloereção ou convulsões, foram ausentes. Observou-se diferenças significativas nas massas absolutas dos rins e adrenais, resultado este que não foi expressivo quando calculou-se as massas relativas. (Tabela 4).

A avaliação das massas absolutas dos órgãos não reprodutivos é importante, pois o fígado e os rins são responsáveis pelo metabolismo e eliminação de substâncias e, em casos de intoxicação, podem ter a massa aumentada ou diminuída (Mello, 2007).

A composição bioquímica do soro sanguíneo reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtorno no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos (González, 2003).

Tabela 4 – Massa corporal, absoluta e relativa, dos órgãos de ratas expostas ao tratamento com EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral) e controle (água destilada, oral), durante 30 dias.

Variáveis	Controle	Tratamentos com EEtOH, oral		
		250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
Massa corporal(g)	239,5±5,43	221,00±2,02	207,37±8,69	217,87±8,21
		Massa absoluta		
Fígado (g)	8,28±0,4000	7,59±0,2112	7,29±0,2923	7,57±0,2107
Rins (g)	1,7 ± 0,0436 a	1,51±0,0450 ab	1,43± 0,0600 b	1,48 ± 0,0465 b
Adrenais (g)	0,067±0,0033	0,0623±0,0028	0,0547±0,0027	0,0545±0,0032
	a	ab	b	b
Útero (g)	0,7271±0,0786	0,5263±0,0172	0,5902±0,0693	0,7111±0,0557
Ovários (g)	0,1036±0,0026	0,0993±0,0040	0,0912±0,0068	0,105± 0,0044
		Massa relativa		
Fígado (mg/kg)	34,5 ± 1,487	34,3 ± 0,939	35,3 ± 1,164	35,1 ± 1,662
Rins (mg/kg)	7,133± 0,117	6,873±0,186	6,908±0,128	6,834±0,176
Adrenais (mg/kg)	0,28±0,014	0,282±0,012	0,266±0,016	0,251±0,015
Útero (mg/kg)	3,05±0,351	2,385±0,089	2,83 ± 0,301	3,334±0,352
Ovários (mg/kg)	0,434±0,014	0,45± 0,018	0,443±0,034	0,484±0,020

Os dados expressam média (± EPM). Grupos tratados *versus* grupo controle ^{a,b} p > 0,05 . (ANOVA / Tukey), n=8.

A mensuração de ureia sérica para o grupo tratado com EEtOH na concentração de 250 mg/kg, apresentou diferença significativa com relação ao grupo controle. Essa alteração significativa verificada nos níveis de ureia sérica pode ser inicialmente interpretada como uma alteração renal, porém os valores observados em todos os grupos

estão dentro do padrão considerado para a espécie (Silva et al. 2005). As dosagens de creatinina nos grupos tratados com EEtOH não mostraram diferença significativa em relação ao grupo controle, bem como nas análises das transaminases AST e ALT (Tabela 5).

Tabela 5 – Perfil bioquímico de ratas submetidas a 30 dias de tratamento com EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral e controle (água destilada, oral).

Análises	Controle	Tratamentos com EEtOH, oral		
		250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg
URÉIA	35,625 ± 0,980	43,125 ± 1,456	40,125 ± 1,746 ab	38,875 ± 2,021 ab
	b	a		
CREATININA	0,425 ± 0,016	0,437 ± 0,018	0,500 ± 0,037	0,475 ± 0,025
AST	129 ± 12,229	137,5 ± 13,988	235,75 ± 40,363	182,38 ± 39,597
ALT	67,25 ± 2,788	66,38 ± 6,821	82,25 ± 14,853	70 ± 12,904

Os dados expressam média (± EPM). Grupos tratados *versus* grupo controle ^{a,b} p > 0,05 . (ANOVA / Tukey), n=8.

De um modo geral, o perfil bioquímico dos animais demonstrou que os parâmetros de Uréia, Creatinina e ALT estão dentro dos valores referenciados por Silva et al., (2005) (uréia 59,0 mg/dL, creatinina 0,5 mg/dL e ALT 77,0 U/L) , enquanto que os valores de AST nos grupos Controle e 250mg/kg do EEtOH-B apresentaram valores inferiores aos encontrados por Silva et al., (2005) (AST 178,0 U/L). Já os grupos tratados com 500 e 1000 mg / kg

do EEtOH-B apresentaram valores superiores, porém nenhum dos grupos diferiu de forma significativa entre si. Estes dados fornecem indícios de alterações na função hepática, uma vez que a AST e ALT são enzimas presentes em altas concentrações no músculo, fígado e cérebro, e a elevação da sua atividade no sangue pode indicar necrose ou moléstia especialmente nesses tecidos (Messias et al., 2009).

Em danos hepatocelulares leves a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto que em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (Motta, 2003).

A Tabela 6 apresenta os resultados da contagem dos folículos, feita por meio da visualização de cortes histológicos. Observa-se que o número dos folículos não diferiu significativamente entre os grupos tratados e o grupo controle. Portanto, isto sugere que o EEtOH-B, nas diferentes concentrações (250, 500 e 1000 mg/kg), não provocou alterações na produção hormonal das gônadas femininas bem como na produção dos hormônios hipotalâmico-hipofisários que agem conjuntamente na manutenção do ciclo. Os esteroides gonadais secretados durante o ciclo estral tem a função essencial na modulação dos processos relacionados à reprodução em fêmeas, atuando no

hipotálamo, hipófise e ovários, coordenando a secreção cíclica de gonadotrofinas e, portanto a

ovulação (Herbison, 1998; Conneely, 2001).

Tabela 6 – Número médio de folículos ovarianos de ratas Wistar submetidas ao Protocolo de toxicidade crônica, com 30 dias de tratamento com o EEtOH-B (250, 500 e 1000 mg/kg, oral) e controle (H₂O_d, oral).

Grupos	Número de Folículos			
	Primordial	Primário	Secundário	Terciário
250 mg/Kg	6,50 ± 0,80	5,16 ± 0,30	5,50 ± 0,80	0,50 ± 0,22
500 mg/kg	5,00 ± 0,93	4,33 ± 1,20	8,00 ± 0,68	0,50 ± 0,34
1000 mg/kg	5,00 ± 0,93	4,33 ± 0,55	8,00 ± 0,68	0,50 ± 0,34
Controle	7,16 ± 2,65	4,33 ± 0,55	8,00 ± 1,34	0,66 ± 0,21

Os dados expressam média (± EPM). p > 0,05 (ANOVA / Tukey), n=6.

CONCLUSÃO

O extrato etanólico das cascas do caule de *Buchenavia* sp., nos esquemas posológicos de 250, 500 e 1000mg/kg, não apresenta toxicidade sistêmica e reprodutiva significativas em ratas Wistar e sua prole, e não induz abortamento; É interessante ressaltar que uma possível toxicidade reprodutiva desta planta em ruminantes ainda não pode ser descartada pelas diferenças entre esta espécie e a espécie utilizada neste estudo.

APOIO FINANCEIRO

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e UFPI – Universidade Federal do Piauí.

REFERÊNCIAS

Almeida, F.C.G.; Lemonica, I.P. The toxic effects of *Coleus barbatus* B. on the different periods of pregnancy in rats. *J. Ethnopharmacol.*, v.73, p.53-60, 2000.

Bacha, W.J.; Wood, L.M. Colors atlas of veterinary histology. Philadelphia: Lea and Febiger, Philadelphia. 1990. 269p.

Brolio, M.P.; Ambrosio, C.E.; Francioli, A.R. et al. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.34, p.222-232, 2010.

Conneely, O.M. Perspective: female steroid hormone action. *Endocrinology*, v.142, p.2194-2199, 2001.

Conselho Federal De Medicina Veterinária. Legislação. Disponível em: <http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_714.pdf>. Acessado em: 08 de abr. 2010.

González, F.H.D.; Silva, S.C. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

Herbison, A.E. Multimodal influence of estrogen upon gonadotropin releasing hormone neurons. *Endocr Rev.*, v.19, p.302-330, 1998.

Lyra, M.M.A.; Silva, J. H.C.; Lima, C.R. et al. Estudo toxicológico reprodutivo da *Azadirachta indica* A JUSS.(Neem). *Rev. Fitos*, v.1, p.53-57, 2005.

Marques, M.B. Patentes Farmacêuticas e acessibilidade aos medicamentos no Brasil. *Hist. ciênc. saúde – Manguinhos*, v.7, p.7-21, 2000.

Mello, G.W.S.; Oliveira, D.M.; Carvalho, C.J.S. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, p.1-9, 2010.

Mello, M. *Avaliação da toxicidade reprodutiva do pesticida trifênil hidróxido de estanho (TPTH) em camundongos*. 2007. 131f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária). Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2007.

Messias, J.B.; Caraciolo, M.C.M.; Oliveira, I.M. et al. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratas no segundo terço da gestação submetidas à ação do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* D.C., Cactaceae. *Rev. Bras. de Farmacogn.*, v.20, p.478-483, 2010.

Motta, V.T. *Bioquímica Clínica para o laboratório: princípios e interpretações*. 4ed. São Paulo: Robe, 2003.

Muller, J.C. *Toxicidade reprodutiva da Morinda citrifolia* Linn. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

Muller, J.B.B.S., 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.

Oecd's Guideline for the testing of chemicals – n° 414: "prenatal developmental toxicity study" (adopted: 22nd January 2001), 2001. 13p.

Pessoa, C.R.M., Medeiros, R.M.T., Riet-Correa, F. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 33(6):752-758, junho 2013.

Riet-Correa, F.; Medeiros, R.M.T.; Dantas, A.F. *Plantas Tóxicas da Paraíba*. João Pessoa: SEBRAE, 2006.

Riet-Correa, F.; Medeiros, R.M.T.; Tokarnia C.H. et al. Toxic plants for livestock in Brazil: Economic impact, toxic species, control measures and public health implications, p.2-14. In: Panter K.E., Wierenga T.L.; Pfister J.A. (Eds), *Poisonous Plants: Global research and solutions*. CAB International, Wallingford, 2007.

Roop, J.K.; Dhaliwal, P.K.; Guraya, S.S.. Extracts of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* seeds inhibit folliculogenesis in albino rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.38, p.169-172, 2006.

Silva, E.J.R.; Aguiar, F.J.S.; Gonçalves, E.S. et al. Evaluation of the hydroalcoholic extract of *Calendula officinalis* L. on biochemical and hematological parameters in female Wistar rats. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.15, p. 88-93, 2005.

Soares, J.A.B. Ervas medicinais: é preciso ter cuidado!
Disponível em:
<http://www.geocities.com/paraciencia/fitoterapia.html>. Acessado
em 20 de Nov.2011.

Tokarnia, C.H.; Döbereiner, J.; Peixoto, P.V. *Plantas Tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310p.

Wischral, A.; Verreschi, I.T.N.; Lima, S.B. et al. Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim. Reprod Sci.*, v.67, p.181–188, 2001.

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