



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
MESTRADO EM PATOLOGIA

**ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO PLACENTÁRIO E FETAL EM
RATAS, APÓS ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO
DA RAIZ DE *PETIVERIA ALLIACEA* L.**

CARINA SCANONI MAIA

RECIFE-PE

2009

**ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO PLACENTÁRIO E FETAL EM
RATAS, APÓS ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO
DA RAIZ DE *PETIVERIA ALLIACEA* L.**

CARINA SCANONI MAIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia, do Departamento de Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Patologia - Área de concentração - Patologia Geral.

Orientador: Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho - UFPE

Co-orientadores: Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE

Prof^ª. Dr^ª. Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

RECIFE-PE

2009

DEDICO:

Aos meus mais valiosos tesouros: minha família, meus amigos, meus mestres e Aquele que me concedeu todas essas três dádivas anteriores: Deus.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| AGRADECIMENTOS | I |
| RESUMO | III |
| ABSTRACT | IV |
| LISTA DE FIGURAS | V |
| LISTA DE TABELAS | VII |
| LISTA DE ABREVIATURAS | VIII |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 6 |
| 2.1 Geral | 6 |
| 2.2 Específico | 6 |
| 3. METODOLOGIA/ MATERIAL E MÉTODOS | 7 |
| 3.1 Planta | 7 |
| 3.2 Animais | 7 |
| 3.3 Acasalamento dos animais e diagnóstico da prenhez | 8 |
| 3.4 Tratamento com extrato de raízes da <i>Petiveria alliacea</i> | 8 |
| 3.5 Contagem dos sítios de implantação e análise morfológica desses sítios e da placenta | 9 |
| 3.6 Contagem do número de filhotes e análise macroscópica | 10 |
| 3.7 Análise estatística | 10 |
| 4. RESULTADOS | 11 |
| 4.1 Quantificação e análise morfológica dos sítios de implantação e placentas | 11 |
| 4.2 Análise macroscópica e quantitativa dos neonatos | 22 |
| 5. DISCUSSÃO | 24 |
| 6. CONCLUSÕES | 26 |
| 7. REFERÊNCIAS | 27 |
| 8. ANEXOS | 33 |

AGRADECIMENTOS

Aos meus alicerces da vida: minha mãe, Zilma Scanoni Maia e meu padrasto, Gilberto Alves da Silva, aos meus queridos irmãos, Fábio Leonardo Scanoni Maia e Antônio Felipe Scanoni Maia;

Aos meus entes queridos e desencarnados, meu pai Wilson Maia Pereira, minha avó Maria de Melo Scanoni e meu tio Mauro de Melo Scanoni, emano um eterno agradecimento por intermédio das preces.

Ao meu orientador e precursor das novas perspectivas, Nicodemos Pontes de Teles Filho, aos meus co-orientadores pilares e fontes de inspiração da minha escolha profissional, Valéria Wanderley Teixeira e Álvaro Aguiar Coelho Teixeira, exponho minha desmesurável gratidão, pela intensa dedicação a este trabalho e por serem companheiros e amigos de longa jornada.

À Universidade Federal de Pernambuco e a todos que compõe o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Patologia, pois contribuíram diretamente e indiretamente para realização e conclusão do curso.

A Carmelita, Histotecnologista do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da Universidade Federal de Pernambuco, pelo auxílio na parte prática do trabalho.

Apresento um infindo agradecimento a outros grandes professores, Roberto José Vieira de Mello e Maria do Carmo (Departamento de Patologia- UFPE), por sempre se mostrarem solícitos para minhas variadas dúvidas.

Aos professores da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Valdemiro Amaro da Silva Júnior e Joaquim Evêncio Neto (Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal), por acrescentarem conhecimentos e por mostrarem-se sempre disponíveis quando necessitei. Aos professores Argus Vasconcelos de Almeida (Departamento de Biologia), responsável por apresentar à planta *Petiveria alliacea* e algumas de suas propriedades fitoterápicas e Cláudio Augusto Gomes da Câmara (Departamento de Química) que me deu todo o suporte laboratorial e de pessoal para obtenção do extrato da referida planta.

Aos recentes e antigos companheiros do Laboratório de Histologia: Ana Cláudia Carvalho de Araújo e Ana Janaína Janine, responsáveis por me ajudarem nos primórdios inerentes dos experimentos, a Franklin Magliano, Fernanda Angelo e Heitor

Arôxa por compartilharem suas experiências. Gratidão às minhas duas queridas amigas de turma de graduação: Tatiane Cibele de Souza, que além de ser uma amiga fantástica, ajudou-me na coleta das plantas e nas partes iniciais do extrato destas e a Érika Tavares, que também forneceu sua parcela de contribuição.

Aos colegas do Departamento de Química, Ilzenayde Araújo e José Cândido deixo meu eterno apreço pelo auxílio na retirada do extrato da *P. alliacea* e pelas pessoas insólitas que se mostraram.

Emano uma especial ternura para uma amiga e professora de Inglês: Diana (Didi) pela pessoa alegre, maravilhosa e solícita que sempre demonstrou, ficando também para ela, minha parcela de gratidão pelo auxílio na tradução para o inglês do resumo (abstract) deste trabalho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, pela oportunidade de poder usufruir as suas instalações e materiais; Ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Área de Histologia por ter cedido às instalações e os animais para realização desse trabalho, bem como seus funcionários, em especial, Marcos André Santos de Souza, uma excelente pessoa e profissional dedicado, responsável pelo biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.

Finalmente a Quem está acima de todas as conquistas já citadas acima, Que sempre me deu forças nos momentos de vibração ou aflição, pois sei que a tudo assiste e decide permitir ou não. É para Ti que sempre emano minha incansável gratidão, que mergulhada em silêncio, procura chegar ao Teu lugar.

...*Deus*, sinceramente, obrigada por tudo. Aprendi através das situações impostas por Ti, que tudo tem seu momento e hora certa de acontecerem, apenas nem sempre estamos cientes disso.

RESUMO

A planta *Petiveria alliacea* L. é usada na medicina popular em infusões ou misturada com outras plantas, aplicadas em fricções contra dores articulares e reumáticas. Os dados farmacológicos dessa planta são muito variados, servindo como antinoceptiva, anticonvulsante, analgésica, antiinflamatória, hipoglicemiante, antifúngica, vermífugo, gastroprotetora, antitumoral, além de atividade anti-mitótica. Estudos demonstraram que a aplicação de diferentes doses de extratos hidroalcoólico de *P. alliacea*, em ratas, no terceiro ou no quinto dia de gestação possui efeito zigotóxico e abortivo. Assim, o presente estudo teve o objetivo avaliar o efeito de extratos hidroalcoólico da raiz de *P. alliacea*, sobre a interação blastocisto e endométrio em ratas. Para realização do experimento foram utilizadas 30 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, com 90 dias de idade, pesando aproximadamente 200g, provenientes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE. As fêmeas foram acasaladas e divididas em seis grupos: Grupos I e III - ratas tratadas com placebo no 5^o dia de prenhez e sacrificadas no 7^o dia e 14^o dia (controle), respectivamente; Grupo II e IV - ratas tratadas com extrato hidroalcoólico de raiz *P. alliacea* no 5^o dia de prenhez e sacrificadas no 7^o dia e 14^o dia, respectivamente; Grupos V e VI- Neonatos oriundos de matrizes tratadas com placebo e extrato no 5^o dia de prenhez, respectivamente. O extrato foi administrado por via oral (gavagem) na dosagem de 18mg/Kg. Os sítios de implantação e as placentas foram coletados, fixados em líquido de Bouin e processados para inclusão em “paraplast”. Os cortes obtidos foram submetidos à técnica de coloração pela hematoxilina - eosina (H. E). Os resultados mostraram que o extrato hidroalcoólico da raiz de *P. alliacea* ocasiona redução no número de sítios implantados; promove um menor desenvolvimento desses sítios, porém não ocasiona alterações histológicas. Com relação à morfologia placentária não houve alterações significativas, bem como na análise macroscópica dos neonatos não se observou alterações no número de nascidos, no comprimento e peso dos mesmos. Esses resultados sugerem que o extrato hidroalcoólico da raiz de *P. alliacea* na dosagem de 18mg/Kg/animal, administrado em ratas, no quinto dia de prenhez, produz apenas um retardo no processo de implantação.

Palavras Chave: *Petiveria alliacea*, sítios de implantação, placenta, aborto, extrato hidroalcoólico

ABSTRACT

The plant *Petiveria alliacea* L. is used in popular medicine in infusions or mixed with other plants, and it's used in rubbing for rheumatic and joint pains. The pharmacological data of this plant are rather varied, serving as antinociceptive, anti-convulsive, analgesic, anti-inflammatory, hypoglycemic, anti-fungicide, vermicide, gastro-protective, anti-tumor, besides the anti-mitotic activity. Studies have shown that applications of different doses of extracts of *P. alliacea* in female rat, on the third or on the fifth day of pregnancy has a zygotoxicity and abortive effect. Thus, the present study had the objective of analyzing the effect of hydro-alcoholic extracts of the *P. alliacea* root upon the interaction between blastocyst and endometrium in female rats. For the undertaking of the experiment, 30 female rats were used (*Rattus norvegicus albinus*) of the "Wistar" breed, aged 90 days, weighing about 200g, originally from the biotery of the Department of Animal Morphology and Physiology from the Rural Federal of Pernambuco (UFRPE). The females were mated and divided into six groups: Group I and III– female rats treated with placebo on the fifth day of pregnancy and sacrificed on the seventh and 14^o day (control), respectively; Group II and IV – female rats treated with hydroalcoholic extract of the root of the *P. alliacea* on the fifth day of pregnancy and sacrificed on the seventh and 14^o day, respectively; Group V and VI- Neonates from matrices treated with placebo and extract hydroalcoholic on the fifth day of pregnancy, respectively. The extract was introduced by the mouth at the dosage of 18 mg/kg. At the end of the experiment, the female rats were submitted to anesthesia with the use of ketamin hydrochloride (80 mg/kg) and xilazin (6 mg/kg), by intramuscular way for the removal of the uterus, containing sites of implantation, which were fixed in Bouin liquid and processed for the inclusion in "paraplast". The blocks were cut in microtome of the Minot type (Leica RM 2035) and adjusted to 5µm. The cuts were submitted to the staining technique by hematoxilin-eosin (H.E), and analyzed in light microscope, model OLYMPUS BX-49 and photographed in photomicroscope OLYMPUS BX-50. The results have shown that the hydroalcoholic extract of the root of the *P. alliacea* at the dosage of 18 mg/kg/animal causes reduction in the number of implantation sites, promotes a minor development of the sites of implantation, but do not cause histological alterations in these sites. In relation to the placenta morphology, there have been no significant alterations. In addition to that, no alterations in the number of born individuals, in their size and in their weight have been observed during the macroscopic analysis. These results suggest that the hydroalcoholic extract from the *P. alliacea* in the dosage of 18mg/kg/animal, administered to female mice, on the 5th day of pregnancy, will only cause a delay in the instillation process.

Key words: *Petiveria alliacea*, sites of implantation, placenta, abort, hydroalcoholic extract

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|---------|
| Figura 1. Fotografia mostrando sítios de implantações (setas) em útero de rata do grupo I. Tam. 10X15cm..... | 11 |
| Figura 2. Fotografia mostrando sítios de implantações (setas) em apenas um corno uterino de rata do grupo II. Tam. 10X15cm..... | 11 |
| Figura 3. Fotomicrografia de parte do útero de rata do grupo I. Observar sítio de implantação (SI) inserido totalmente na parede uterina. Coloração H-E. Aumento 42X..... | ± 12 |
| Figura 4. Decídua contendo fibroblastos (setas longas), macrófago (seta curta) e leucócito (ponta de seta). Coloração H-E. Aumento 1071X..... | ± 13 |
| Figura 5 -. Notar glândulas endometriais (setas). Coloração H-E. Aumento 107X..... | ± 13 |
| Figura 6. Sítio de implantação várias lacunas contendo sangue materno (setas). Coloração H-E. Aumento 107X..... | ± 14 |
| Figura 7. Trofoblastos próximos às lacunas (setas) e citotrofoblastos com núcleos grandes e vesiculosos (pontas de setas). Coloração H-E. Aumento 428X..... | ± 14 |
| Figura 8. Citotrofoblastos em mitose (seta), alguns apresentando poliplóidia (pontas de setas). Coloração H-E. Aumento ± 428X..... | 15 |
| Figura 9. Fotomicrografia do útero de rata do grupo II. Observar sítio de implantação (SI) inserido totalmente na parede uterina. Coloração H-E. Aumento 42X..... | ± 15 |
| Figura 10. Decídua contendo fibroblastos (setas longas), macrófagos (setas curtas) e leucócito (ponta de seta). Coloração H-E. Aumento ± 428X..... | 16 |
| Figura 11. Várias lacunas (setas). Coloração H-E. Aumento ± 107X..... | 16 |

| | |
|---|----|
| Figura 12. Observar citotrofoblastos em atividade mitótica, alguns apresentando poliploidia (pontas de setas). Coloração H-E. Aumento \pm 428X..... | 17 |
| Figura 13. Disco placentário (barra). Coloração H-E. Aumento \pm 42X..... | 17 |
| Figura 14. Regiões: Labirinto (L), Trofospongio (T) e Células trofoblásticas gigantes (setas). Coloração H-E. Aumento \pm 107X..... | 18 |
| Figura 15. Camada do labirinto composta por células trofoblásticas (setas) e vasos sanguíneos (VS). Coloração H-E. Aumento \pm 428..... | 18 |
| Figura 16. Células da camada do trofospôgio. Coloração H-E. Aumento \pm 428..... | 19 |
| Figura 17. Células trofoblásticas gigantes (setas). Coloração H-E. Aumento \pm 428X..... | 19 |
| Figura 18. Decídua basal com numerosos vasos sanguíneos (setas). Coloração H-E. Aumento \pm 107X..... | 19 |
| Figura 19. Disco placentário (barra). Coloração H-E. Aumento \pm 42X..... | 20 |
| Figura 20. Observar as regiões: Labirinto (L), Trofospongio (T) e Células trofoblásticas gigantes (setas). Coloração H-E. Aumento \pm 107X..... | 20 |
| Figura 21. Camada do labirinto composta por células trofoblásticas. Coloração H-E. Aumento \pm 428..... | 21 |
| Figura 22. Células da camada do trofospongio com citoplasma bastante vacuolado. Coloração H-E. Aumento \pm 428..... | 21 |
| Figura 23. Observar células trofoblásticas gigantes (seta) binucleadas. Coloração H-E. Aumento \pm 428X..... | 22 |
| Figura 24. Observar a região da decídua basal com numerosos vasos sanguíneos (setas). Coloração H-E. Aumento \pm 107X..... | 22 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Médias e desvios-padrão dos sítios de implantações dos grupos experimentais..... | 12 |
| Tabela 2. Médias e desvios-padrão do número de neonatos nascidos..... | 23 |
| Tabela 3. Médias e desvios-padrão do peso dos neonatos..... | 23 |
| Tabela 4. Médias e desvios-padrão do comprimento dos neonatos..... | 23 |

LISTA DE ABREVIATURAS

g- grama

W – Watt

h- horas

mg- miligrama

kg – kilograma

ml – mililitro

μ - micrômetro

nm- nanômetro

cm- centímetro

tam- tamanho

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais como base terapêutica é secularmente conhecido e aplicado nas diferentes culturas em todo o mundo, tendo sofrido profunda alteração diante da introdução da terapêutica sintética, e altamente industrializada, em meados do século XX. Nesse contexto mundial, as indústrias farmacêuticas brasileiras foram, em sua maioria, desativadas ou substituídas por empresas multinacionais, modificando então a prática médico-terapêutica que se afastou e, mesmo, negligenciou a utilização de plantas medicinais (FERNANDEZ, 2004).

Atualmente nas regiões mais pobres do País, e até mesmo, nas grandes cidades brasileiras as plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e cultivadas também em quintais residenciais. As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, de forma relevante, para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais reescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantém em voga a prática de consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MACIEL et al., 2002).

A fitoterapia é regulamentada pela RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000 (OLIVEIRA et al., 2006). Com o reconhecimento pela Organização Mundial de Saúde (OMS), na Conferência de Alma Ata em 1978, o aproveitamento das plantas medicinais foi ressaltado como parte do Programa Saúde Para Todos no Ano 2000 recomendando-se, inclusive a realização de mais estudos e a propagação do uso das plantas medicinais regionais como uma maneira de diminuir custos dos programas de saúde pública (YAMADA, 1998). Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos cuidados básicos de saúde. Deste universo, 85% utilizam plantas ou preparados (BRASIL, 2006), porém, desse total, pelo menos 30% apenas dar-se por indicação médica (MARTINS et al., 1998).

São identificadas diferentes áreas de estudos, como a fitoterapia, a homeopatia, ou mesmo alopátia; que utilizam milhares de espécies de plantas. A fitoterapia é o método de tratamento de enfermidades que emprega vegetais frescos, drogas vegetais ou, ainda, extratos vegetais preparados com esses dois tipos de matérias-primas.

Etimologicamente, fitoterapia significa tratamento por meio das plantas, pode ser encarada do ponto de vista da alopatia e do ponto de vista da homeopatia (OLIVEIRA; AKISUE 1997).

O uso de plantas medicinais na terapêutica está intimamente relacionado até com a própria evolução do homem. Dados revelam a sua utilização já pelo homem de Neanderthal, que usava de suas propriedades mágico-simbólicas quando se deparava com algum tipo de malefício. Para utilizarem as plantas como medicamentos, os homens antigos valiam-se de suas próprias experiências empíricas de acerto e erro, e da observação do uso de plantas pelos animais, além da intervenção divina para determinadas doenças. Em suma, percebe-se que mitos, lendas e tradições apontam para o emprego amplo de plantas medicinais em todos os tempos, em todas as camadas sociais e quase em toda a humanidade (OLIVEIRA et al., 2006).

É bem provável que das cerca de 200.000 espécies vegetais que possam existir no Brasil, na opinião de alguns autores, pelo menos a metade pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população, mas nem 1% dessas espécies com potencial, fora motivo de estudos adequados. As pesquisas com estas espécies devem receber apoio total do poder público, pois além do fator econômico, há de se destacar a importância para a segurança nacional e preservação dos ecossistemas onde existam tais espécies. (MARTINS et al., 1998). No entanto, no Brasil desenvolve-se um grande número de pesquisas que tem contribuído significativamente para o desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas (YUNES et al., 2001).

Por outro lado, as exigências da sociedade moderna têm imputado novos padrões de hábitos sociais, redundando em condições, muitas vezes desfavoráveis, para os integrantes da classe trabalhadora, ou os menos assistidos socialmente; de tal sorte, que geralmente acabam por recorrer à medicina popular, devido a seu baixo custo e ao fácil acesso. Muito têm sido os relatos de casos de intoxicação proporcionados pela administração de chás, elixires, etc; em cuja composição se encontra extratos de determinados tipos de vegetais perigosos (MEYERS; JAWETZ; GOLDIFIEN 1970). Apesar de reconhecer a legitimidade do conhecimento tradicional, uma planta para ser usada em qualquer atividade ou programa de fitoterapia deve ser cientificamente validada (ALBUQUERQUE et al., 2004).

A *Petiveria alliacea* L., é uma planta que teve grande importância cultural no período da escravidão no Brasil, sendo-lhe atribuída poderes de vida e morte. Tal crença se deve ao fato de que a planta poderia provocar um tipo de intoxicação, que

levava à imbecilidade e à morte, variando os efeitos com as doses e tempo de uso. Os escravos já a conheciam e utilizavam seus efeitos tóxicos e sedativos, dando-lhe o significativo nome de “amansa-senhor”. No século XVII, estava em voga o quebranto, magia que uma vez lançada sobre as vítimas, fazia com que estas definhassem e morressem. Na verdade, o efeito era provocado pelas folhas dessa planta, também conhecida como guiné, que quando ingeridas causavam envenenamento (CORRÊA 1984; GOMES et al., 2005).

Essa planta possui como característica um odor aliáceo, que transfere ao leite de gado gosto desagradável, em regiões onde é abundante nos pastos. Devido a sua toxicidade, o uso da planta se restringe as aplicações externas. Seu uso na medicina popular é em infusões ou em misturas com outras plantas (arruda, alho, lágrima-de-nossa-senhora, dentre outras), aplicadas em fricções contra dores articulares e reumáticas (LOW et al., 1999). Também é considerada antiespasmódica, diurética, sudorífica e emenagoga, sendo usada na forma de infusão fraca das folhas ou das raízes contra hidropsia, artrite, reumatismo, malária, memória fraca e para induzir abortos (OLUWOLE; BOLARINWA 1998; MORS et al., 2000).

Representante da família fitolacácea, a *P. alliacea* é uma planta herbácea, perene, sublenhosa, delgada, ereta, cerca de 1m de altura, com característico odor de alho, de ramos delgados, compridos, quase eretos ou ascendentes; folhas curtamente pecioladas, alternas, membranosas, inteiras, elípticas, oblongas ou obovais, agudas ou cuminadas no ápice, estreitadas na base, escassamente pubescentes ou glabras, 3-12 cm de largura; flores sésseis, pequenas, verdoengas, em delgadas espigas bracteadas; fruto capsular, pequeno e cuneiforme. É oriunda da África e da América tropical, sua raiz, em decocto ou em pó, são antiespasmódicas e abortivas. Devem, porém, ser usadas parcimoniosamente, sob pena de produzirem intoxicação que pode levar a imbecilidade, à afasia e até a morte, segundo observação popular (CORRÊA, 1978). O nome do gênero foi dado em homenagem a Jacob Petiver, farmacêutico e amante da natureza (STASI; LIMA 2002).

Os dados farmacológicos da *P. alliacea* são muito variados. O infuso das raízes apresentou ação antinoceptiva, protegendo parcialmente animais contra convulsões induzidas por pentilonotetrazol (GOMES et al., 2005), atividade antiinflamatória e analgésica (LOPES-MARTINS et al., 2002) e hipoglicemiante (GARCÍA-GONZALEZ et al., 2006). O composto dibenziltrisulfeto apresenta importante atividade inseticida e

acaricida (MATEOS et al., 2007), antifúngica (BENEVIDES et al., 2001; KIM et al., 2005), antitumoral (An, et al., 2006; BAO et al., 2007) e citotóxica para algumas linhagens de células cancerosas (WILLIAMS et al., 2007). Entretanto, não apresentou eficácia na regressão de carcinomas hepatocelulares (RUFFA et al., 2001). Okada et al., (2008) relataram ainda que alguns derivados da *P. alliacea* possui ação antioxidante.

O extrato hidroalcoólico de *P. alliacea* utilizado popularmente como vermífugo, também apresentou atividade antiviral (RUFFA, 2002). O extrato aquoso da folha da planta apresenta também atividade gastroprotetora (CORTEZ et al., 1998), hematopoiética (QUADROS et al., 1999), porém, pode ser hepatotóxico (TORRES et al., 2007). Estudos *in vitro* com leucócitos demonstraram atividade genotóxica, decorrentes de substâncias mutagênicas e potencialmente carcinogênicas (HOYOS et al., 1992), além de atividade anti-mitótica (MALPEZZI et al., 1994). Segundo Kim et al., (2005) que de um total de 18 compostos organossulfúricos presentes nas raízes da *P. alliacea* três deles apresentaram efeitos antimicrobianos (antifúngica e antibacteriana).

Dessa planta, foram isoladas, da raiz e do caule, várias substâncias como o nitrato de potássio; ácido palmítico, ácido linoléico, ácido esteárico, beta-sitosterol; trissulfeto de dibenzil; nitrato de sódio, peptídios como ácido glutâmico; serina; glicina; e alantoína, trans-N-metil-4-metoxiprolina, beta-sitosterol, pinitol, alantoína, lignoceril álcool, ácido lignocérico, lignocerato de lignoceril e alfa-friedelinol (SOUZA et al., 1990); flavonóides: 6-formil-8-metil-7-O-metilpinocembrina, 3-O-ramnosídeos de dihidrokaempferol, dihidroqueratina e miricetina (MONACHE; SUAREZ 1992); flavonóides, triterpenos (MONACHE et al., 1996) e dibenziltrissulfeto (DBTS) (SOUZA et al., 1990; JOHNSON et al., 1997). Na sua composição química, foram encontrados ainda cumarinas, saponinas e taninos (PANIZZA 1998), principalmente, os sulfetos orgânicos, trissulfeto de dialila, benziltiol e outros análogos, responsáveis por suas ações e pelo odor de alho (LORENZI; MATOS 2002).

É notório, também o uso desta planta para fins abortivos, como relata os autores Peters et al (1988), que estudando o efeito da aplicação de diferentes doses de extratos das folhas de *P. alliacea*, em ratas, no terceiro ou no quinto dia de gestação, e analisadas no 14^o dia de prenhez, observaram que o extrato hidroalcoólico (18mg/kg) possui efeito zigotóxico e anti-implantação e a fração solúvel em água (20mg/kg) tem efeito embriotóxico e abortivo. Já Guerra et al. (1989) observou os efeitos do extrato aquosos das folhas (100mg/kg), caules (100mg/kg) e raízes (200mg/kg), constatando

que as raízes e folhas possuem efeito anti-implantação, enquanto que o caule parece ter efeito zigotóxico.

De acordo com Aplin (1991), Ramsey (1982) e Cross; Werb; Fisher (1994) a implantação é considerada o ponto crítico da gravidez, pois o sucesso da gestação requer o desenvolvimento de uma interação sincronizada entre o endométrio e o blastocisto. Embora alguns trabalhos, como, por exemplo, o de Hoyos et al. (1992) relatem efeitos genotóxicos por possíveis agentes mutagênicos e carcinogênicos presentes nas raízes desta planta, não há descrições sobre a teratogenicidade em filhotes, quando mães são tratadas durante a gestação, com extrato hidroalcoólico desta planta.

Em virtude do alto índice do uso da *P. alliacea* para fins medicamentosos e da carência de pesquisas que relatem os efeitos concretos e verossímeis de extratos hidroalcoólicos da raiz de *P. alliacea*, sobre a interação blastocisto e o endométrio, bem como seu possível efeito teratogênico sobre a prole, o presente trabalho teve os seguintes objetivos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral:

- Avaliar os efeitos tóxicos aa nível microscópico e macroscópico provocados pela administração do extrato hidroalcolico de raiz da planta *P. alliacea*, em ratas (*Rattus norvegicus albinus*) prenhes e em neonatos.

2.2. Específicos:

- Quantificar o número e analisar histologicamente os sítios de implantação;
- Avaliar histologicamente a interação blastocisto e endométrio;
- Quantificar o número, peso e comprimento dos neonatos, além de avaliar possíveis mal-formações.

3. METODOLOGIA / MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nas dependências dos Laboratórios de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), do Departamento de Patologia, da Universidade Federal de Pernambuco e de Histologia e Produtos Naturais Bioativos, dos Departamentos de Morfologia e Fisiologia Animal e Química, da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

3.1 Planta

A planta *P. alliacea* foi obtida em um sítio na cidade de Limoeiro, do Estado de Pernambuco. Após coleta das plantas, as mesmas foram levadas ao Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química, da Universidade Federal Rural de Pernambuco para separação das raízes.

Após o isolamento das raízes, as mesmas foram lavadas e depois colocadas em uma estufa a 40°C por 24 horas para secagem. No dia seguinte, foram fragmentadas em pedaços pequenos para serem colocadas em uma máquina trituradora até virar pó. Posteriormente 925g desse pó foi colocado em um balão de fundo chato com auxílio de um funil de vidro. A seguir, foi adicionado álcool etílico (70%) até cobrir totalmente a amostra, deixando-a por 24 horas. No dia seguinte foi realizada a filtração, e o líquido levado a um rota evaporador para evaporação do álcool e obtenção do extrato. Esse procedimento foi repetido por duas semanas seguidas até obter uma quantidade de 3,65 g de extrato hidroalcoólico da raiz de *P. alliacea*.

3.2 Animais

Foram utilizadas 30 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) com 90 dias de idade, virgens, pesando aproximadamente 200g, da linhagem Wistar, procedentes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os animais foram confinados em gaiolas e mantidos com alimentação e água “*ad libitum*”, temperatura de 22°C e iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes (marca Phillips, modelo luz do dia, 40 W), que estabeleceu o fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando o período de luz das 06:00 às 18:00 horas.

Após um período de adaptação, foram colhidos esfregaços vaginais para a determinação do ciclo estral. Os animais que apresentaram três ciclos estrais regulares foram divididos, ao acaso, em seis grupos, cada um constituído por cinco animais, a saber:

Grupo I - ratas tratadas com placebo no 5^o dia de prenhez e sacrificadas no 7^o dia (controle);

Grupo II - ratas tratadas com extrato hidroalcolico da raiz de *P. alliacea* no 5^o dia de prenhez e sacrificadas no 7^o dia;

Grupo III - ratas tratadas com placebo no 5^o dia de prenhez e sacrificadas no 14^o dia (controle);

Grupo IV - ratas tratadas com extrato hidroalcolico da raiz de *P. alliacea* no 5^o dia de prenhez e sacrificadas no 14^o dia;

Grupo V – ratas tratadas com placebo no 5^o dia de prenhez, para análise dos neonatos (controle);

Grupo VI – ratas tratadas com extrato hidroalcolico da raiz de *P. alliacea* no 5^o dia de prenhez, para análise dos neonatos.

3.3 Acasalamento dos Animais e Diagnóstico da Prenhez

Após análise da ciclicidade estral de todos os grupos, as fêmeas que estavam ciclando, foram acasaladas na proporção de um macho para duas fêmeas, sempre no início da noite (18:00h). Na manhã (06:00h) do dia seguinte, foram realizados exames colpocitológicos para a confirmação do acasalamento, tomando-se com parâmetro a presença de espermatozoides nos esfregaços.

3.4 Tratamento com o extrato de raízes da *Petiveria Alliacea*

Foi administrado por via oral (gavagem) 18mg/kg do extrato, o qual foi dissolvido inicialmente com cinco gotas de etanol e posteriormente diluído em 0,5 ml de água

destilada, no quinto dia de prenhez para as fêmeas do grupo II, IV,VI, seguindo a metodologia descrita por Guerra et al., (1989). Para as fêmeas do grupo I, III, V, e VIII foi administrado pela mesma via, apenas 0,5 ml de água destilada com as cinco gotas de etanol.

3.5 Contagem dos sítios de implantação e análise morfológica desses sítios e da placenta

As fêmeas dos grupos I e II foram eutanasiadas no sétimo dia após confirmação do acasalamento para quantificação e análise morfológica dos sítios de implantação. Já as fêmeas dos grupos III e IV foram eutanasiadas no 14º dia de prenhez para análise morfológica das placentas. Para tanto, os animais foram anestesiados com hidrocloridrato de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intramuscular. A seguir, foi realizada a abertura da cavidade abdominal desde o púbis até o rebordo das costelas; procedendo-se em seguida, a disjunção da sínfise púbica, para facilitar a remoção total do útero e por fim, foram retirados os cornos uterinos contendo sítios de implantação e placentas, que foram imediatamente mergulhados em líquido de Bouin. Ao final do tempo de fixação os cornos uterinos das fêmeas dos grupos I e II foram colocados, um por um, em uma placa de Petri e levados a uma lupa para contagem dos sítios de implantação, utilizando-se como referência, as áreas dilatadas apresentadas pelos mesmos. Após esses procedimentos, os cornos uterinos e as placentas foram clivados transversalmente e longitudinalmente, obtendo-se fragmentos, os quais foram desidratados em álcool etílico (concentrações crescentes), diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. A seguir, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustado para 5 µm. Os cortes assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37°C, durante 24 horas, para secagem e colagem. Em seqüência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela hematoxilina - eosina (H. E.), e analisados em microscópio de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

3.6 Contagem do número de filhotes e análise macroscópica:

As fêmeas prenhas dos grupos V e VI foram acompanhadas durante toda a gestação até o nascimento dos filhotes, os quais foram contados, medidos com auxílio de um paquímetro e pesados em balança analítica. A análise macroscópica foi feita através da observação de alguma possível malformação visível, e da alteração no peso e tamanho dos filhotes.

3.7 Análise Estatística

As médias do número dos sítios de implantação, peso, número e tamanho dos neonatos foram submetidas ao teste não paramétrico de Mann-Witney, e quando necessário, comparadas pelo teste de Dunn com 95% de significância.

4. RESULTADOS

4.1 Quantificação e análise morfológica dos sítios de implantação e placentas

As ratas do grupo I apresentaram vários sítios de implantação distribuídos uniformemente ao longo dos cornos uterinos (Figura 1). Já nas ratas do grupo II verificou-se uma redução no número de sítios de implantação (Figura 2), o que foi comprovado estatisticamente (Tabela 1).



Figura 1 - Fotografia mostrando sítios de implantações (setas) em útero de rata do grupo I. Tam. 10X15cm.

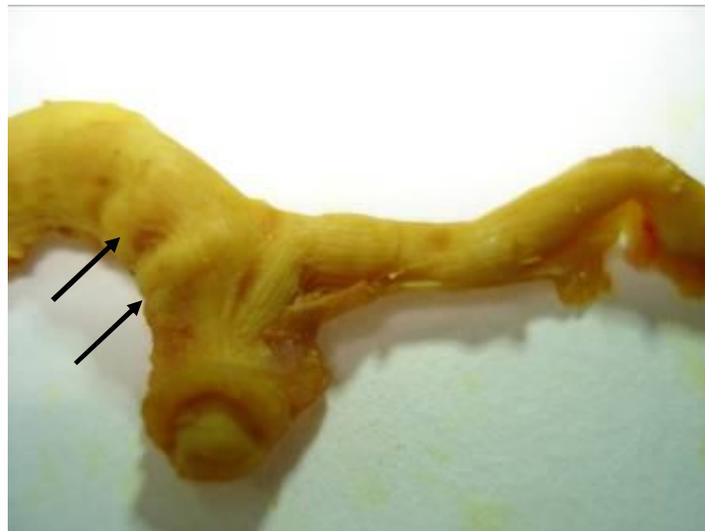


Figura 2 - Fotografia mostrando sítios de implantações (setas) em apenas um corno uterino de rata do grupo II. Tam. 10X15cm.

Tabela 1 - Médias e desvios-padrão dos sítios de implantações dos grupos experimentais

| Grupos | Média ± Desvio Padrão |
|--------|-----------------------|
| G I | 12,8a ± 0,83 |
| GII | 10,6b ± 0,89 |

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Dunn's ($P \leq 0,05$).

A análise histológica dos sítios de implantação das ratas do grupo I revelou que estes estavam totalmente inseridos na parede do útero, sendo bastante desenvolvidos e muito próximos um do outro, sendo separados por uma faixa muito pequena de estroma endometrial (Figura 3).

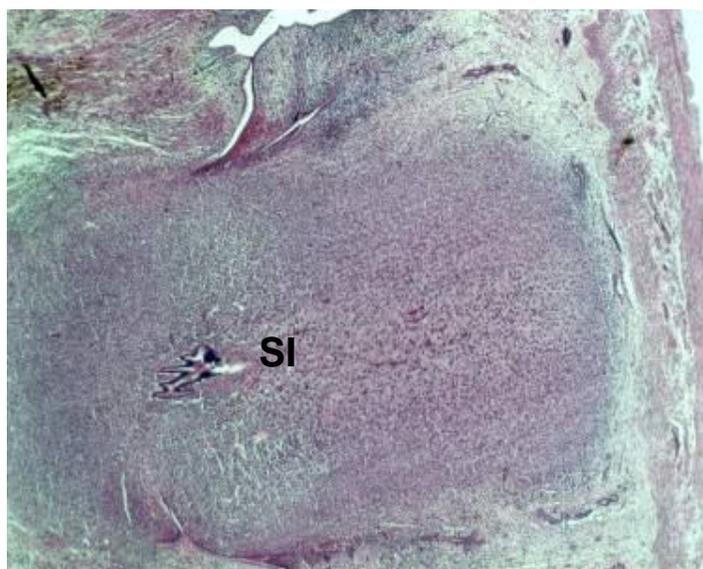


Figura 3 - Fotomicrografia de parte do útero de rata do grupo I. Observar sítio de implantação (SI) inserido totalmente na parede uterina. Coloração H-E. Aumento ± 42X.

No estroma endometrial evidenciou-se a reação decidual, onde os tipos celulares mais comuns foram os fibroblastos, leucócitos e macrófagos (Figura 4). Notamos ainda a presença de grande quantidade de glândulas endometriais (Figura 5) que geralmente situam-se próximas aos sítios de implantação.

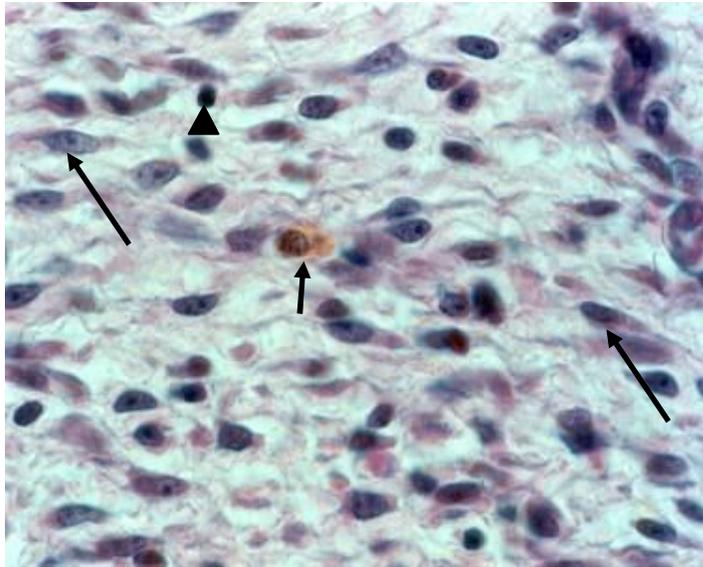


Figura 4 - Observar decídua contendo fibroblastos (setas longas), macrófago (seta curta) e leucócito (ponta de seta). Coloração H-E. Aumento $\pm 1071X$.

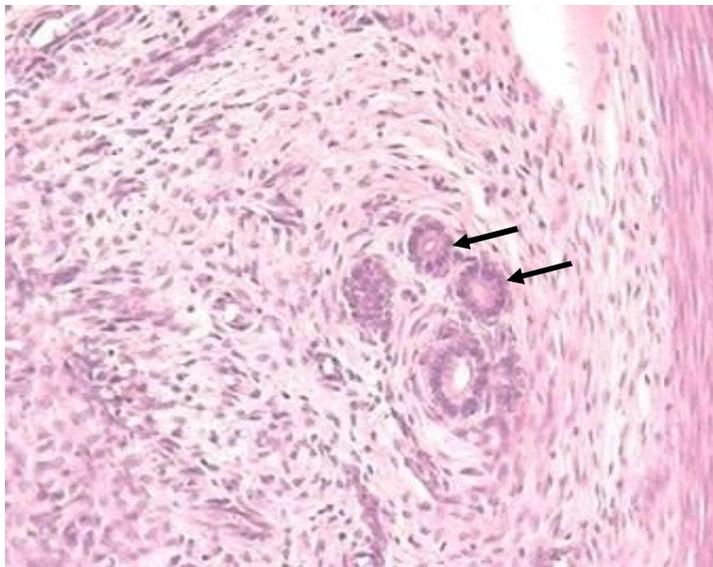


Figura 5 - . Notar glândulas endometriais (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

Observou-se nos sítios de implantação a ocorrência de pequenas lacunas contendo sangue, provenientes da ação erosiva dos trofoblastos sobre a parede dos vasos sanguíneos materno (Figura 6). Esses trofoblastos apresentavam-se em vários estágios de desenvolvimento, onde encontramos células trofoblásticas intermediárias e gigantes. Notou-se ainda a presença dos citotrofoblastos: células com núcleos relativamente grandes, vesiculosos, citoplasma claro e com atividade mitótica. Também foi

visualizada poliploidia em algumas células citotrofoblasticas (Figuras 7 e 8). Não foi observada a formação de sinciciotrofoblastos nos sítios.

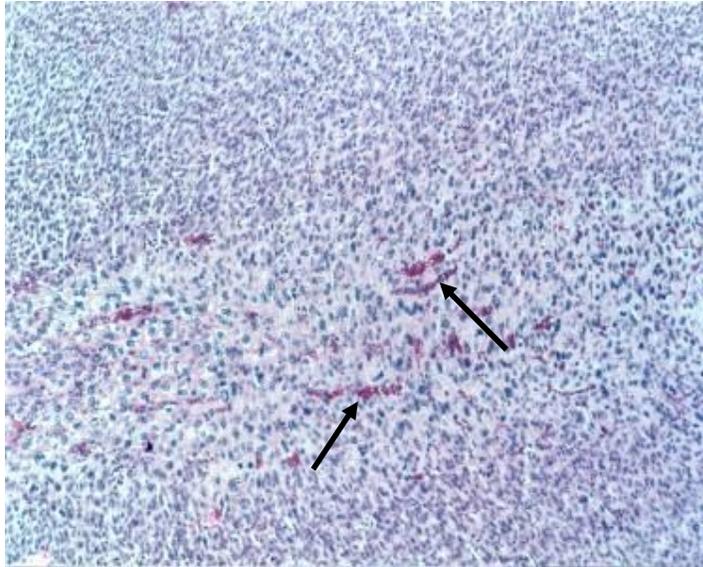


Figura 6: Verificar no sítio de implantação várias lacunas contendo sangue materno (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

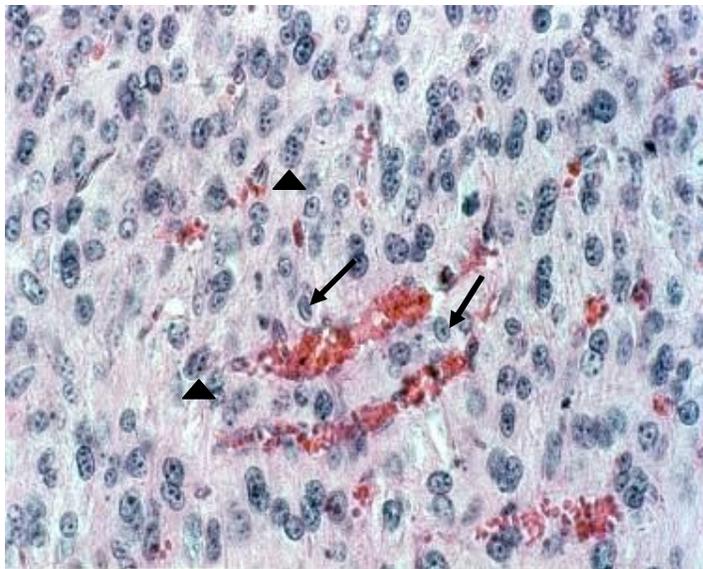


Figura 7: Observar trofoblastos próximos às lacunas (setas) e citotrofoblastos com núcleos grandes e vesiculosos (pontas de setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 428X$.

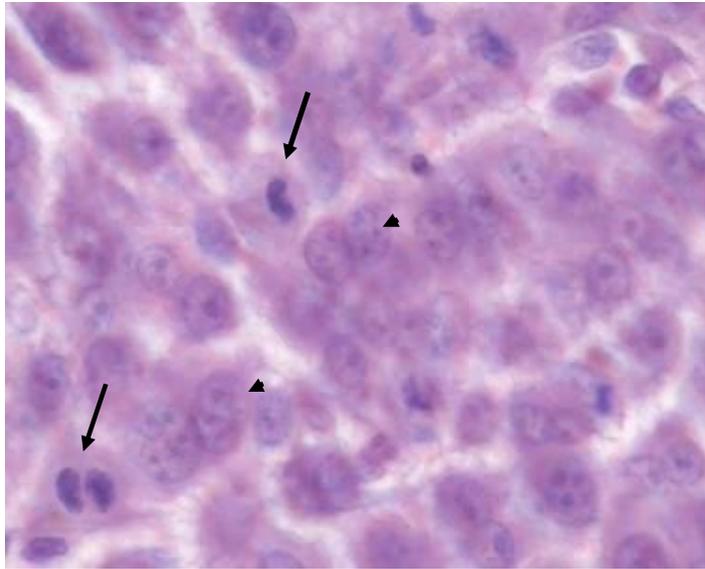


Figura 8: Ciotrofbastos em mitose (seta), alguns apresentando poliplóidia (pontas de setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 428X$.

Analisando morfologicamente os sítios de implantação das ratas do grupo II, verificou-se que os mesmos apresentaram aspectos histológicos semelhantes aos do grupo controle, ou seja, os sítios de implantação demonstram uma total inserção na parede do útero (Figura 9), presença de fibroblastos, macrófagos e leucócitos na decídua basal (Figura 10). Também foi evidenciada em todos os sítios de implantação presença de várias lacunas (Figura 11). Os trofoblastos e os ciotrofbastos mostraram as mesmas características descritas para o grupo controle (Figura 12). Não foi observada a formação de sinciciotrofbastos nos sítios.



Figura 9: Fotomicrografia do útero de rata do grupo II. Observar sítio de implantação (SI) inserido totalmente na parede uterina. Coloração H-E. Aumento $\pm 42X$.

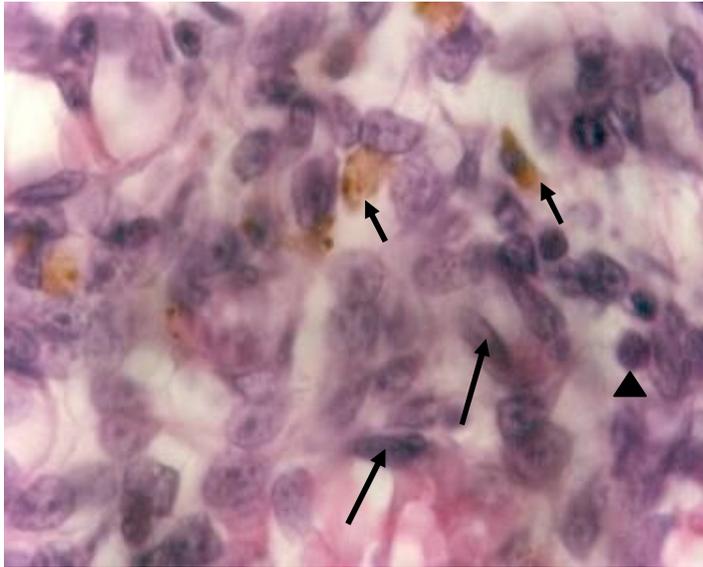


Figura 10 - Observar decídua contendo fibroblastos (setas longas), macrófagos (setas curtas) e leucócito (ponta de seta). Coloração H-E. Aumento $\pm 428X$

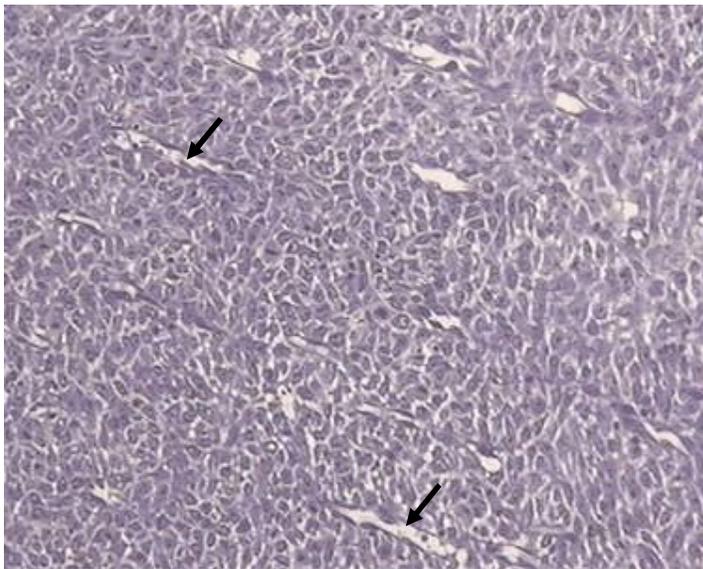


Figura 11: Observar várias lacunas (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

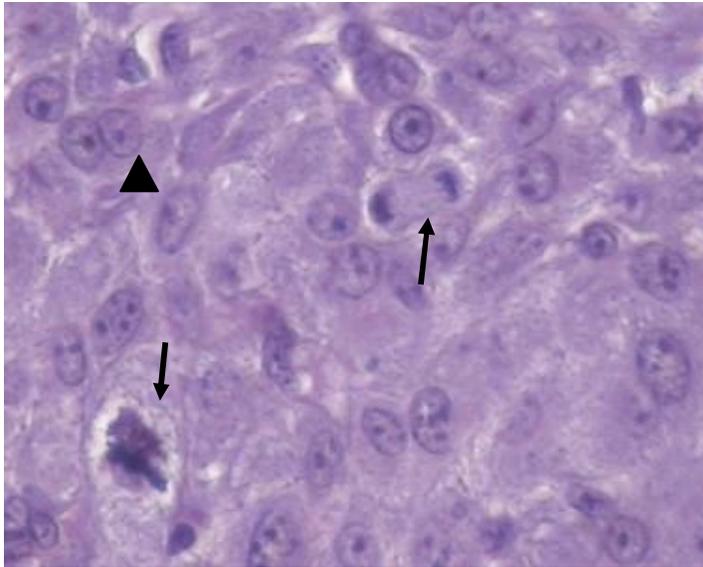


Figura 12: Observar citotrofbastos em atividade mitótica, alguns apresentando poliploidia (ponta de seta). Coloração H-E. Aumento $\pm 428X$.

Nas placentas com quatorze dias de desenvolvimento, o grupo III (controle), apresentou três regiões bem distintas, que juntas constituem o disco placentário (Figura 13). Essas regiões constituem a camada do labirinto, a camada de trofospôncio e a camada de células trofoblásticas gigantes (Figura 14).

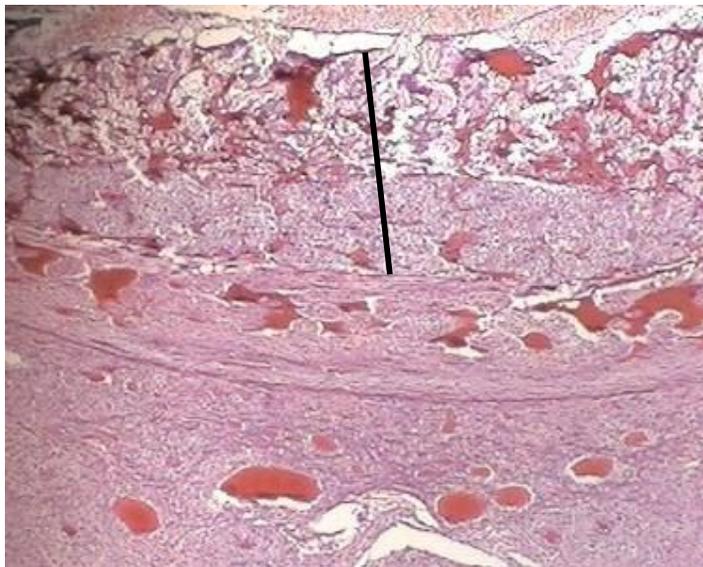


Figura 13: Disco placentário (barra). Coloração H-E. Aumento $\pm 42X$.

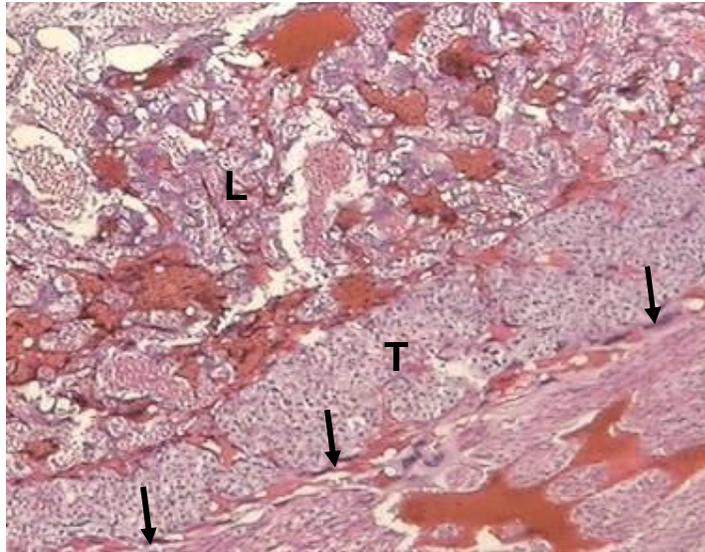


Figura 14: Observar as regiões: Labirinto (L), Trofospongio (T) e Células trofoblásticas gigantes (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

A camada do labirinto é a mais espessa e caracteriza-se pela presença de numerosas lacunas, vasos sanguíneos e células trofoblásticas em vários estágios de diferenciação (Figura 15). A camada de trofospongio apresenta células com citoplasma vacuolado (Figura 16). Essas células se desenvolvem até formar a camada mais interna do disco denominada de células trofoblásticas gigantes que se organizam em fileira, misturando-se com a decídua basal (Figura 17). A decídua basal mostrou-se ricamente vascularizada (Figura 18).

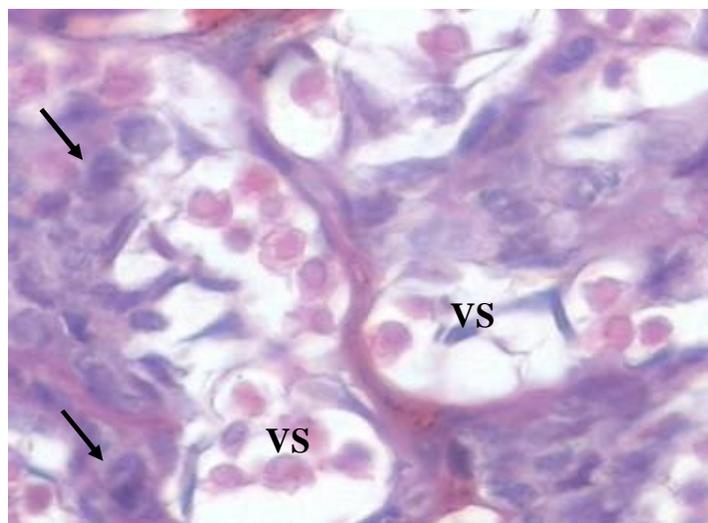


Figura 15: Camada do labirinto composta por células trofoblásticas (setas) e vasos sanguíneos (VS). Coloração H-E. Aumento ± 428 .

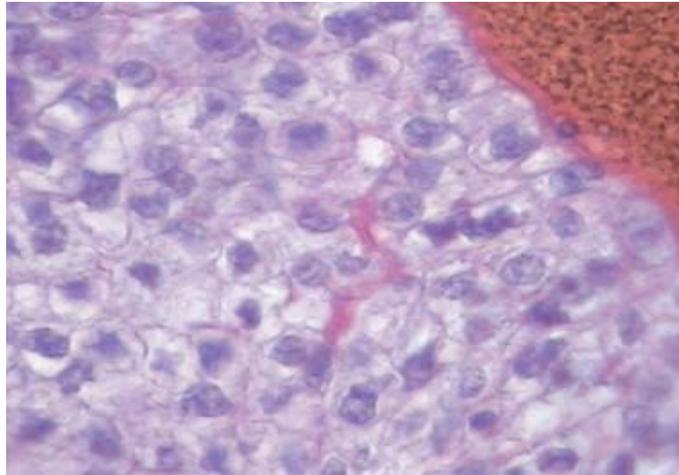


Figura 16: Células da camada do trofospôgio. Coloração H-E. Aumento ± 428 .

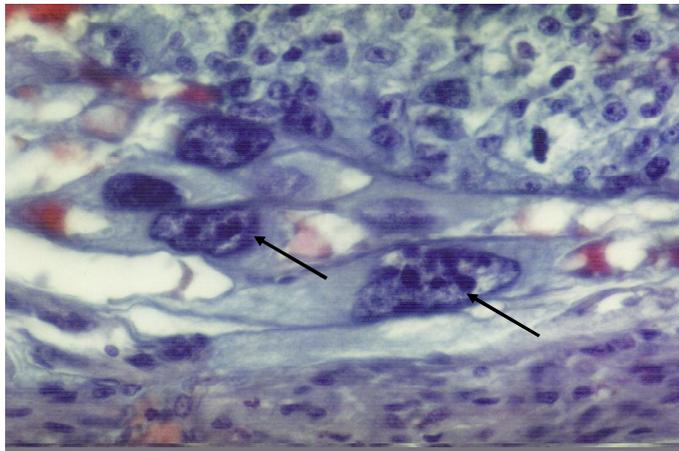


Figura 17: Observar células trofoblásticas gigantes (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 428X$.

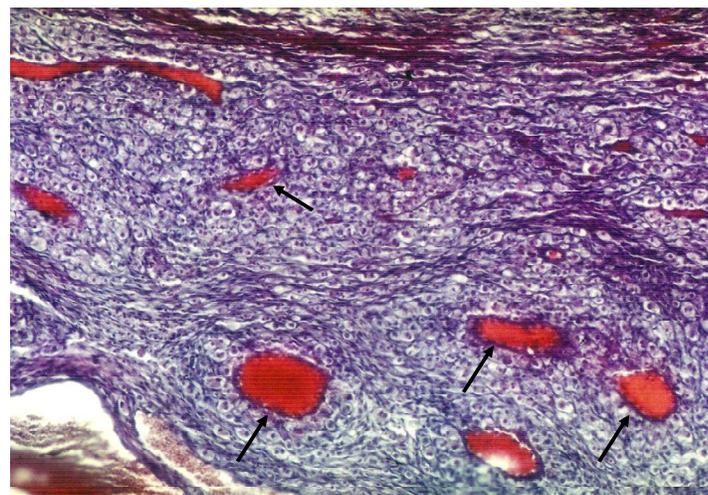


Figura18: Observar a região da decídua basal com numerosos vasos sanguíneos (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

As placentas das ratas do grupo IV (tratado), também apresentaram as mesmas camadas, bem distintas, comuns ao grupo controle, (Figuras 19 e 20).

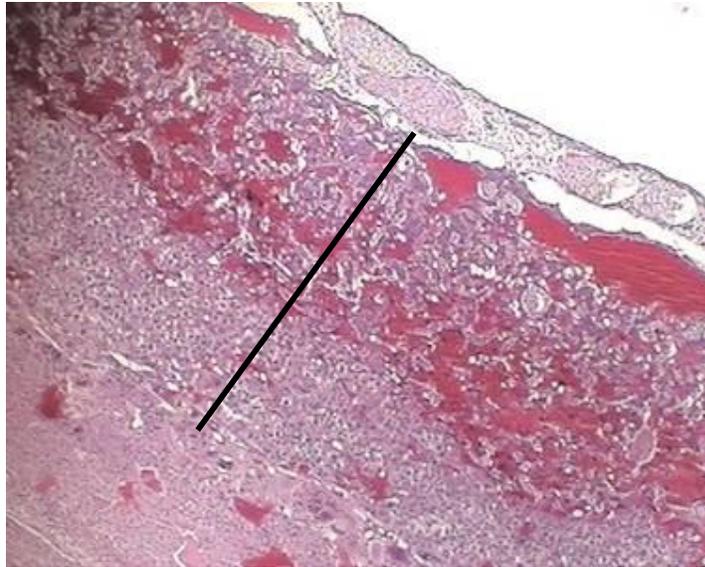


Figura 19: Disco placentário (barra). Coloração H-E. Aumento $\pm 42X$.

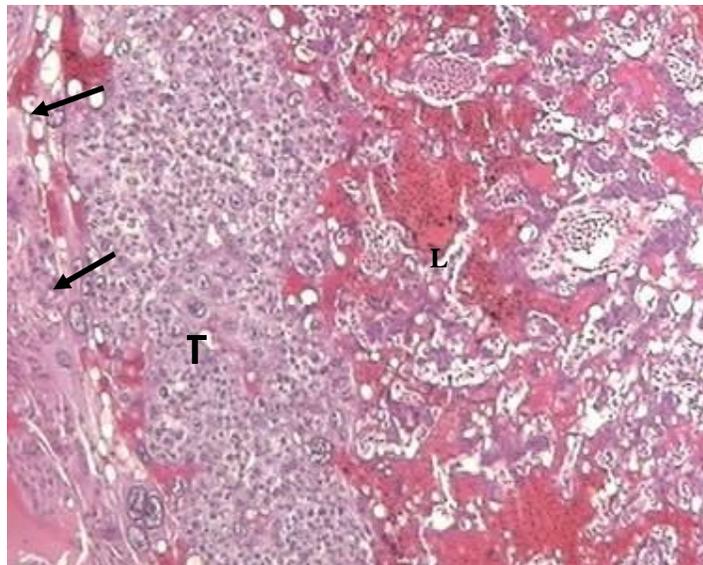


Figura 20: Observar as regiões: Labirinto (L), Trofospongio (T) e Células trofoblásticas gigantes (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

As células das camadas do disco placentário também apresentaram as mesmas características histológicas do grupo controle (Figuras 21, 22 e 23). No entanto, as células trofoblásticas gigantes apresentaram-se bem mais volumosas e algumas contendo dois núcleos (Figura 24). A decídua basal mostrou-se também ricamente vascularizada (Figura 25).

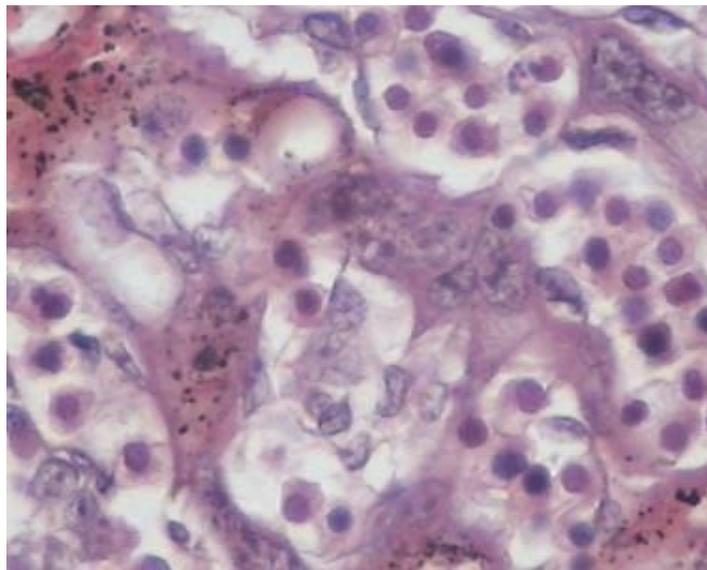


Figura 21: Camada do labirinto composta por células trofoblásticas. Coloração H-E. Aumento ± 428 .

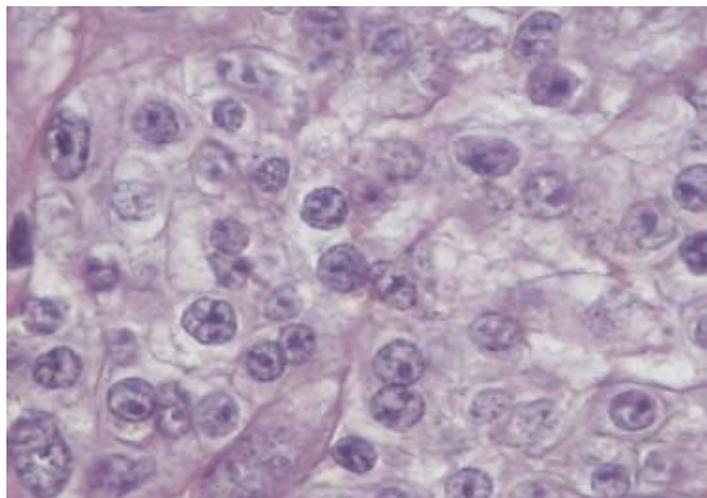


Figura 22: Células da camada do trofospongio com citoplasma bastante vacuolado. Coloração H-E. Aumento ± 428 .

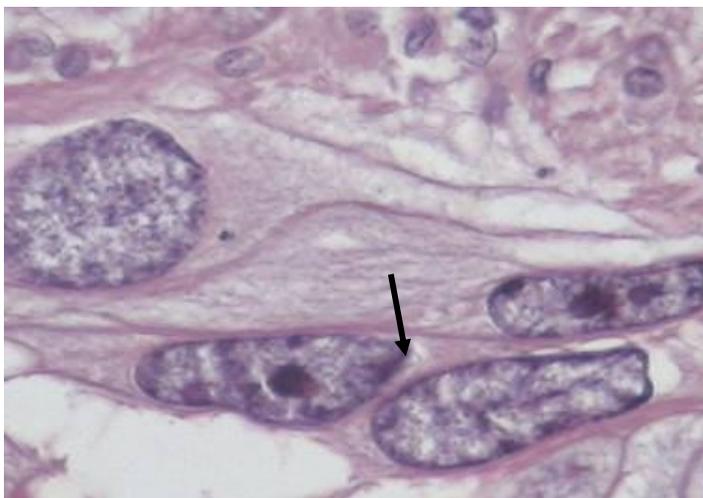


Figura 23: Observar células trofoblásticas gigantes (seta) binucleadas. Coloração H-E. Aumento $\pm 428X$

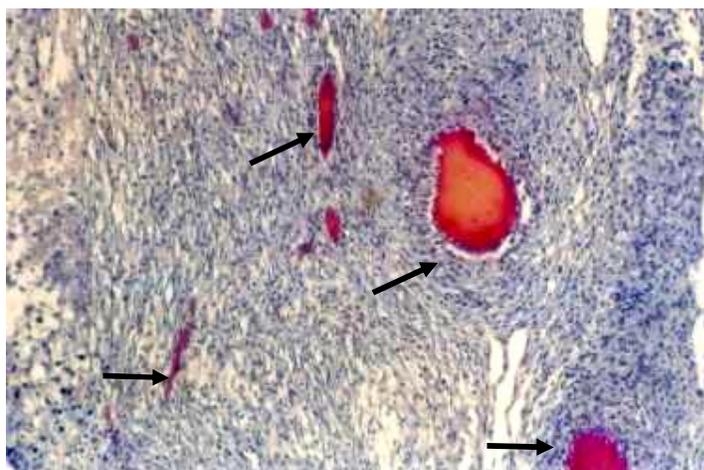


Figura 24: Observar a região da decídua basal com numerosos vasos sanguíneos (setas). Coloração H-E. Aumento $\pm 107X$.

4.2 Análise macroscópica e quantitativa dos neonatos

Não houve diferenças estatísticas significativas no número, peso e comprimento dos neonatos nos grupos experimentais (Tabelas 2, 3 e 4). Também não foram observadas mal-formações na cabeça, tronco e membros dos neonatos.

Tabela 2 - Médias e desvios-padrão do número de neonatos nascidos.

| Grupos | Média ± Desvio Padrão |
|--------|-----------------------|
| G V | 11,40 ± 3,64a |
| GVI | 9,80 ± 1,09a |

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Dunn's ($P \leq 0,05$).

Tabela 3 - Médias e desvios-padrão do peso dos neonatos.

| Grupos | Média ± Desvio Padrão |
|--------|-----------------------|
| G V | 6,20 ± 0,81a |
| GVI | 6,36 ± 0,12a |

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Dunn's ($P \leq 0,05$).

Tabela 4 - Médias e desvios-padrão do comprimento dos neonatos.

| Grupos | Média ± Desvio Padrão |
|--------|-----------------------|
| G V | 64,17 ± 3,15a |
| GVI | 64,57 ± 1,36 a |

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Dunn's ($P \leq 0,05$).

5. DISCUSSÃO

A implantação é um ponto crítico na gestação dos mamíferos (PARIA; SONG; DEY 2001). Na rata, os embriões chegam ao útero cerca de três a quatro dias após a fertilização e se implantam regularmente espaçados devido, presumivelmente às contrações uterinas. Na cavidade uterina, o blastocisto acha-se constituído por células trofoblásticas que envolvem uma massa de células, o embrioblasto (ENDERS; SCHLAFKE 1967). A circulação placentária e fetal é fundamental para o fornecimento de substâncias essenciais ao desenvolvimento do feto e maturação dos órgãos (SHIBLEY et al., 1999). A maioria das drogas atravessa a placenta por difusão simples, e dessa forma diversas substâncias malélicas podem causar danos à mesma e ao feto em desenvolvimento (GARCÍA; FERNANDEZ 2001; SADLER 2007).

O extrato hidroalcoólico da raiz da planta *P. alliacea* na dosagem estudada não apresentou, de fato, efeito anti-implantação, pois o número de neonatos não diferiu do grupo controle, mesmo havendo uma diminuição estatisticamente significativa no número de sítios implantados nas ratas tratadas, embora reduções no número de sítios implantados tenham sido também relatados por Peters et al. (1988) e Guerra et al. (1989) em ratas tratadas com extrato aquoso dessa planta. Porém, Peters et al. (1988) relataram ainda que o extrato hidroalcoólico, na dosagem de 18mg/kg administrado no 3º ou 5º dia de gestação, só teve efeito zigotóxico, onde afirma que o número reduzido de zigotos implantados indicam uma propriedade interceptiva do extrato .

Assim, sugerimos que houve apenas um retardo no processo de implantação nas ratas tratadas, o que implicou na redução dos sítios de implantação e não necessariamente um efeito abortivo, contrariando de certa forma, as suposições de Peters et al (1988). Já Oluwole; Bolarinwa (1998) verificaram que o extrato de sementes dessa planta quando administrado em ratas durante a gestação, estimula as contrações uterinas induzindo assim o aborto. Sendo assim, poderíamos pressupor que o aumento das contrações uterinas, por possíveis compostos também presentes nas raízes, apenas retardou a implantação.

Segundo Moore (2004), o bem-estar do embrião e do feto depende de uma boa circulação uteroplacentária, e alguns fatores como a desnutrição, fatores genéticos e diversas drogas (álcool, tabagismo, alguns medicamentos...) podem provocar disfunções ou defeitos da placenta, bem como a redução do fluxo sanguíneo uterino, promovendo um quadro conhecido por *fome fetal*, que leva ao IUGR (Restrição de Crescimento

Intra-Uterino) e conseqüentemente, a alterações no tamanho e peso dos fetos e muitas vezes, ocasionando a morte fetal.

Os resultados mostraram que não houve alterações no que se refere à histologia da placenta aspecto macroscópico, número, peso e tamanho dos neonatos. Segundo Gutiérrez-Pajares; Zúñiga; Pino (2003) e Leal et al. (2003) flavonoides, acridones, furanocoumarinas e cumarinas são alcalóides com um largo espectro de atividades encontrados em vários vegetais. Dentre estes os flavanóides e a curamina estão presentes na raiz de *P. alliacea* (MONACHE et al., 1996; PANIZZA 1998). Schroder et al. (1998) relataram que os flavonóides de origem sintética ou natural podem causar efeitos fatais sobre os descendentes durante a gestação até o desmame. No entanto, esse mesmo autor cita ainda que flavonóides sintéticos quando administrados em ratas prenhas, são rapidamente eliminados pelo organismo materno através do intestino, porém, são encontrados em todos os tecidos fetais, inclusive no cérebro. Hamann et al. (2006), relataram que os flavonóides naturais retirados de diversas espécies vegetais também não afetam ratos adultos, mesmo após três meses de tratamento.

Madari; Jacobs (2004), relataram que diversos compostos vegetais como a cumarina têm potencial efeito citotóxico. Isso sugere que os diferentes efeitos observados envolvem diretamente o potencial de ação de compostos ativos que pode variar de acordo com a formulação do extrato. Outro fato é de que esses efeitos variam com a dose e tempo de exposição (el AGRAA; el BADWI; ADAM 2002). Dessa forma, a não interferência do extrato hidroalcoólico da *P. alliacea* na morfologia da placenta, número, peso e tamanho dos neonatos pode ser devido ao período de aplicação e/ou dosagem administrada.

Sendo assim, mais pesquisas são necessárias com outras dosagens de extrato hidroalcoólico de *P. alliacea* e talvez por um período mais longo de administração, para validar seu possível efeito abortivo, bem como as prováveis modificações morfológicas na placenta e os possíveis efeitos tóxicos nos neonatos.

6. CONCLUSÕES

O extrato hidroalcoólico da raiz de *P. alliacea* na dosagem de 18mg/kg/animal, administrado em ratas no 5° dia de prenhez e sacrificadas do 7° dia, ocasiona redução no processo de implantação, porém, não ocasiona alterações histológicas na morfologia placentária e não altera o número, tamanho e peso dos neonatos.

A ausência de redução significativa no número de neonatos nascidos, observados no grupo VI, sugere apenas retardo no processo de implantação.

7. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, V.P.; ANDRADE, L.H.C. Fitoterapia uma alternativa para quem? *Fitoterapia*. v. 43, p. 1-15, 2004.

AN, H.; ZHU, J.; WANG, X.; XU, X. Synthesis and anti-tumor evaluation of new trisulfide derivatives. *Biorganic Medicinal Chemistry Letters*, San Diego, CA, v. 16, n.18, p. 4826-4829, sept. 2006.

APLIN, J. D. Implantation, trophoblast differentiation and haemochorial placentation mechanistic: evidence in vivo and in vitro. *Jornal of Cell Science*, London, v.99, n.4, p.681 – 692, 1991.

BAO, Y.; He, Y., Xu, X., Mo, X.; Xu, X.; Wang, X., AN, H. Quantitative determination of anti-tumor agent bis (4-fluorobenzyltrisulfide, fluoropacin and its pharmaceutical preparation by high-performance liquid chromatography). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 206-210, 2008.

BENEVIDES, P.J. et al. Antifungal polysulfides from *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, Egham, v.57, n.5, p. 743-7,2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria 971, de 03 de maio de 2006. Diário Oficial da União, 04.05.2006. Disponível em <<http://www.in.gov.br/materias/xml/do/secao1/2117398.xml>> acesso em 01 de março 2008.

CORTEZ, D. A. G.; AUDI, E. A.; ALBERTON, J. R.; Estudo da atividade ansiolítica e anti-ulcerogênica da *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15., 1998, Águas de Lindóia. Anais do XV simpósio de plantas medicinais do Brasil, Águas de Lindóia: [s.n.], 1998. v.1, p.94.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v.6, p. 255.

CROSS, J. C.; WERB, Z.; FISHER, S. J. Implantation and placenta: key pieces of the development puzzle. *Science*, Washington. v. 266, p. 1508 – 1518, 1994.

el AGRAA, S. E.; el BADWI, S. M.; ADAM, S. E. Preliminary observations on experimental *Ruta graveolens* toxicosis in Nubian goats. Trop Anim Health Prod v. 34, n. 4, p. 271–281, 2002.

ENDERS, A. C.; SCHLAFKE, S. A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. American Journal of Anatomy, Philadelphia, v. 120, p. 185 – 226, 1967.

FERNANDES, T.M. Plantas medicinais, memória da ciência no Brasil. 1. ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2004. P. 13.

GARCIA-GONZALEZ, Z. M.; COTO-MORALES, T.; OCAMPO, R.; PAZOS, L. Subchronic and acute preclinic toxicity and some pharmacological effects of the watter extract from leaves of *Petiveria alliacea* (Phytolaccacea). Revista de Biologia Tropical, San José, v. 54, n. 4, p. 1323-1326, 2006.

GARCIA, S.M.L.; FERNÁNDEZ, C. G. Embriologia. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. P.266.

GOMES, P.B.; OLIVEIRA, M.M.S.; NOGUEIRA, C.R.A.; NORONHA, E.C.; CARNEIRO, L.M.V.; BEZERRA, J.N.S.; NETO, M.A.; MENDES, S.M.S; FONTELES, M.M.F.; VIANA, G.S.B.; SOUSA, F.C.F. Study of antinociceptive effect of isolated fractions from *Petiveria alliacea* L. (tipi) in mice. Biological & Pharmaceutical Bulletin. V.28, n.1, p. 42-46, 2005.

GUERRA, M.O; OLIVEIRA, A.B.; MAIA, J.G. S.; PETERS, V.M. Screening of amazon native plants with a potential for inhibiting fertilization in rats. Acta Amazônica, v.18, n.1/2, p. 129-134, 1988. Supplement.

GUTIÉRREZ-PAJARES, J. L.; ZÚÑIGA, L.; PINO, J. *Ruta graveolens* aqueous extract retards mouse preimplantation embryo development. Reprod Toxicol. v. 17, n. 6, p. 667-72, 2003.

HAMANN, I.; SEIDLOVA, W.D.; WUTTKE W.; KOHRLE, J. Effects of isoflavonoids and other plant-derived compounds on the hypothalamus-pituitary-thyroid hormone axis. International Symposium on Phytomedicines en Gynecology, Majorca: n. v.55, 2006, p. 101.

HOYOS, L.S.; WILLIAM, W.A.; HEO, M. Y. MORRIS, D.L.; LEGATOR M.S. Evaluation of the genotoxic effects of a folk medicine, *Petiveria alliacea* (anamu). *Mutation Research, Amsterdam*, v. 280, n.1, p.29-34, 1992.

JOHNHON, L.; WILLIAMS, L.A.D.; ROBERTS, E.V. An insecticidal and acaricidal polysulfide metabolite from the roots of *Petiveria alliacea*. *Pesticide Science, Oxford*, v.50, n.3, p.228-32, 1997.

KIM, S.; KUBEC, R.; MUSAH, R.A. Antibacterial e antifungal activity of sulfur-containing compounds from *Petiveria alliacea* L. *Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, Suíça, CH*, v. 104, n.1/2, p.188-192, 2006.

KNIPP, G. T.; AUDUS, K. L.; SOARES, M. J. Nutrient transport across the placenta. *Advances in Drug Delivery Reviews, Amsterdam*, v. 38, n. 1, p.41-58, Jun. 1999.

LEAL, L. K. M.; NECHIO, M.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K.M.; FONTENELE, J. B.; RIBEIRO, R.A.; VIANA, G.S.B. Anti-inflammatory and smooth muscle relaxant activities of the hydroalcoholic extract and chemical constituents from *Amburana cearensis* A C Smith. *Phytother Res.* v.17, p. 335-340, 2003.

LOPEZ-MARTINS, R.A.; PEGORARO, D.H.; WOISKY, R., PENNA, S.C.; SERTIÉ, J.A.A.. The anti-inflammatory and analgesic effects of a crude extract of *Petiveria alliacea* L.(Phytolaccaceae). *Phytomedicine, Jena*, v.9, n.3, p.245-248, 2002.

LORENZINI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Nova Odessa. Instituto Plantarum, 2002. p. 228.

LOW, T.; ROOD, T.; BERESFORD, R. *Segredos e virtudes das plantas medicinais*. Rio de Janeiro: Reader`s Digest Brasil, 1999. p.415.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F.Jr.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. *Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares*. *Revista Química Nova*, v. 25, p. 429-438, 2002.

MADARI, H.; JACOBS, R.S. Na analysis of cytotoxic botanical formulations used in the traditional medicine of ancient Persia as abortifacients. *Journal of Natural Products*, v.67, n.8, 1204-1210, 2004.

MALPEZZI,E.L.; DAVINO, S.C.; COSTA, L.V.; FREITAS, J.C.; GIESBRECHT, A.M.; MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.R. Plantas medicinais. 2. ed. Viçosa, MG, UFV, 1998. 220 p.

MARTINS, E.R. et al. Plantas medicinais. 2. ed. Viçosa, MG, UFV, 1998. 220 p.

MATEOS, G.M.R.; SÁNCHEZ, E.E.; ROBLES, P.E.; SÁNCHEZ, M.A. Toxicity of *Petiveria alliacea* on greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* West.). Interciencia. v.32, n.2, 121-124, 2007.

MEYERS, F. M.; JAWETZ, E.; GOLDIFIEN, A. Farmacologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1970. p. 668.

MONACHE, F. D.; CUCA SUAREZ, L.E. 6-C-formyl and 6-C-hydroxymethyl flavonones from *Petiveria alliacea*. Gazz. Chim. Ital., Oxford, v.31, n.7,p. 2481-2482,1992.

MONACHE, F. D.; MECHINI, F.; SUAREZ, L.E.C. *Petiveria alliacea*: further flavonoids and triterpenes. Gazz. Chim. Ital., Oxford, v. 126, n.5, p.275-278,1996.

MOORE, K. L., 2004. Embriologia clínica. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. pp. 122-123.

MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. Medicinal plants of Brazil. Michigan: Inc. Algonac, 2000. p. 377.

OKADA, Y.; TANAKA, K.; SATO, E.; OKAJIMA, H. Antioxidant activity of the new thiosulfinate derivate, s-benzylphenylmethanethiosulfinate, from *Petiveria alliacea* L. Organic Biomolecular Chemistry, Cambridge v. 6, p. 1097-1202, 2008.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1997. p. 178.

OLIVEIRA, M.J.S.; SIMÕES, M.J.S.; SASSI, C.R.R. Fitoterapia no sistema de saúde pública (SUS) no estado de São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Plantas Médica, v. 8, n. 2, p. 39-41, 2006.

OLUWOLE, F. S.; BOLARINWA, A. F. The uterine contractile effect of *Petiveria alliaceae* seeds. Fitoterapia, Milano, v. 69, n. 1, p. 3-6, 1998.

- PANIZZA, S. Plantas que curam. 3. ed. São Paulo: IBRASA, 1998. 280pp.
- PARIA, B. C.; SONG, H.; DEY, S. K. Implantation: molecular basis of embryo-uterine dialogue. The International journal of developmental biology, v. 45, p. 597 – 605, 2001.
- PETERS, V.M.; OLIVEIRA, A.B.; MAIA, J.G.; OLIVEIRA, GUERRA, M.O. Efeito biológico de extratos das folhas de *Petiveria alliacea* na gestação de ratas. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, Juiz de Fora, v.7, n. 31/38, 1988.
- RAMSEY, E. M. The placenta human and animal. New York: Praeger Publishers.1982. p. 187.
- RUFFA, M.J.; FERRARO, G.; WAGNER, M.L.; CALGANO, M.L.; CAMPOS, R.H.; CAVALLARO, L. Antiviral activity of *Petiveria alliacea* against the bovine viral diarrhoea virus. Chemotherapy, Basel, v. 48, n.3, p.144-147, 2002.
- RUFFA, M.J.; FERRARO, G.; WAGNER, M.L.; CALGANO, M.L.; CAMPOS, R.H.; CAVALLARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. Journal of ethnopharmacology, v.79, n.3, p. 335-339, 2002.
- SADLER, T. W. Langman. Fundamentos de embriologia médica. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- SCHRODER; J.P; HEIDE, D.; ROKOS, H; ESCOBAR; G.M.; KOHRLE, J. Synthetic flavonoids cross the placenta in the rat and are found in fetal brain. America Journal of Physiology, v. 274, n.2, p.253-256, 1998.
- SHIBLEY, I.A.; MCINTYRE, T.A.; PENNINGTON, S.N. Experimental models used to measure direct and indirect ethanol teratogenicity. Alcohol and Alcoholism, v. 34, p. 125-140, 1999.
- SOUZA, J.R.; DEMUNER, A.J.; PINHEIRO, J.A.; BREITMAIER,E.; CASSELS, B.K. Dibenzyl trisulfide and trans-n-methyl-4-methoxyproline from *Petiveria alliacea*. Phytochemistry, Elmsford, v.29, n.11, p.3653-3655,1990.
- STASI, L. C. Di. ; LIMA, H. A. C. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. São Paulo: Unesp, 2002. p. 167-169.

TORRES, V.M.; XIMENES, S.C.C.; SANTOS, E.M.; MELO, A.D.; GOMES, L.A.L.; HIGINO, J.S.; SOUSA, F.S.; MELO, A.F.M. Avaliação bioquímica e hematológica do extrato bruto aquoso das folhas de *Petiveria alliacea* linn em ratos wistar. Disponível em: <[http://www.fesbe.org.br/~nattis/regional 2007/resumos/5.html#r15805](http://www.fesbe.org.br/~nattis/regional%202007/resumos/5.html#r15805)>.

WILLIAMS, L.A.D.; ROSNER, H.; LEVY, H.G.; BARTON, E.N. A critical review of the therapeutic potential of dibenzyl trisulphide isolated from *Petiveria alliacea* L. (Guinea hen weed, anamu). West Indian Medical Journal, v. 56, n.1, p.17-21, 2007.

YAMADA, C.S.B. Fitoterapia: sua história e importância. Revue Racine, n. 43, p.50-51, 1998.

YUNES, A.R; PEDROSA, R.C.; FILHO, V.C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade de desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Química nova. V.24, n.1, p. 146-152, 2001.

8. ANEXOS

ANEXO A- carta da comissão de Ética em Experimentação Animal da UFRPE



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL

CONSELHO TÉCNICO ADMINISTRATIVO

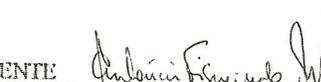
DECISÃO Nº. 80/2008.

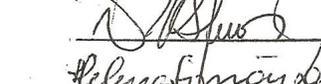
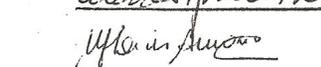
O CONSELHO TÉCNICO ADMINISTRATIVO, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, em sua VII Reunião Ordinária, realizada no dia 23 de outubro de 2008, examinou o processo n. 9341/08, procedente da Prof.ª Valéria Wanderley Teixeira encaminhando o projeto de pesquisa intitulado: "Análise do Desenvolvimento Placentário e da Prole em Ratas, após Administração do Extrato Hidroalcoólico da Raiz de *Petiveria alliacea* L".
RESOLVE:

O CTA do DMFA resolve a unanimidade de seus membros aprovarem o parecer favorável do(a) relator(a). Prof.ª Helena Simões Duarte.

Sala de Reuniões, 23 de outubro de 2008.

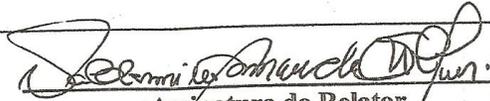
PRESIDENTE



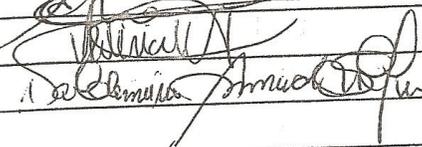




3) Parecer do Relator

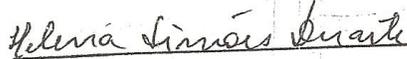
APÓS ANÁLISE DOS PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E METODOLÓGIA EMPREGADA NOS PROCEDIMENTOS DE EUTANÁSIA DO PROJETO INTITULADO ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO PLACENTÁRIO E DA PROLE EM RATOS, APÓS ADMINISTRAÇÃO DO EXTRACTO HIDROALCÓOLICO DA RAIZ DE BETULERIA ALIACCA SÓN FAVORÁVEL A EXCUSA DO MÉTADO. LEMBREMOS AINDA QUE O NÚMERO DE ANIMAIS EMPREGADOS NO EXPERIMENTO DEVE SER CONSIDERADO RACIONAL DENTRO DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS E ESTATÍSTICOS PARA OBTENÇÃO DE RESULTADOS CIENTÍFICOS CONFIÁVEIS


Assinatura do Relator

Membros da Comissão de Ética:

Diretor (a) do DMFA:



Prof.ª Helena Simões Duarte
Substituta Eventual do DMFA

ANEXO B- Comprovante de submissão do artigo científico

Submissions Being Processed for Author Carina Scanoni Maia, BSc

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display 10 results per page

| Action | Manuscript Number | Title | Initial Subm |
|--|-------------------|---|--------------|
| View Submission Send E-mail | PHYMED-D-09-00094 | Analysis of fetal and placental development in rats after administration of hydroalcoholic extract from the root of <i>Petiveria alliacea</i> L. (Phytolaccaceae) | Feb 02 |

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display 10 results per page

[<< Author Main Menu](#)

Maia, Carina Scanoni

Análise do desenvolvimento placentário e fetal em ratas, após administração do extrato hidroalcoólico da raiz de *Petiveria alliacea* L. / Carina Scanoni Maia. – Recife : O Autor, 2009.

viii, 33 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2009.

Inclui bibliografia e anexos.

1. *Petiveria alliacea* L. – Efeito abortivo. I. Título.

615
615.1

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
BC2009-020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

AUTOR: CARINA SCANONI MAIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA GERAL

NOME DA DISSERTAÇÃO: “ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO
PLACENTÁRIO E FETAL EM RATAS, APÓS ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DA RAIZ DE *Petiveria alliacea* L.”.

ORIENTADOR: PROF. DR. NICODEMOS TELES DE PONTES FILHO

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
PATOLOGIA.

DATA: 17 DE FEVEREIRO DE 2009.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Roberto José Vieira de Mello

Profa. Dra. Maria do Carmo Carvalho de Abreu e Lima

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira