

ESTUDO DO EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA *Simarouba versicolor* SOBRE A ATIVIDADE ESTROGÊNICA EM RATAS IMPÚBERES

Sahâmia Martins Ribeiro (bolsista ICV); Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes (orientador, Depto de Bioquímica e Farmacologia/UFPI); Josana de Moraes Coelho (colaborador, UFPI), Marlene Sipaúba de Oliveira (colaborador, UFPI)

Introdução

Nos últimos anos têm-se apregoadado que constituintes de plantas com uma estrutura fenólica similar aos estrogênios, conhecidos como fitoestrogênios (FE), seriam alternativas naturais à terapia de reposição hormonal da menopausa. Os FE encontrados em várias plantas comestíveis podem ter efeitos estrogênicos e antiestrogênicos (CLAPAUCH *et al.*, 2002). Estes compostos assumiram importância biológica e econômica nos anos 40, com a diminuição da fertilidade induzida em ovelhas pela ingestão de trevos de pastagens, na Austrália, na chamada “Doença do Trevo”. Por outro lado, a atividade estrogênica tem sido descrita em compostos produzidos por animais, plantas e microorganismos e também em químicos manufaturados e seus produtos derivados industrialmente, como pesticidas e inseticidas, incluindo o DDT (MURKIES *et al.*, 1998).

Dentro desta perspectiva, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do extrato etanólico da casca de *Simarouba versicolor* sobre a atividade estrogênica de ratas impúberes.

Metodologia

O extrato etanólico foi preparado a partir das cascas de *Simarouba versicolor*, coletada em Angical - Piauí. A exsicata da espécie já foi identificada e depositada no acervo do Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí, em Teresina, Piauí sob o número TEPB-20.883. Foram utilizadas 50 ratas da linhagem Wistar imaturas (21 ± 1 dia pós-natal) divididas aleatoriamente em cinco grupos de 10 animais (Quadro 1).

QUADRO 1 - Delineamento experimental do ensaio uterotrófico com extrato etanólico da casca da *Simarouba versicolor* (EESV) em ratas.

N	Grupos	Posologias (veículos)	Vias de administração
10	Controle (veículo)	10 ml/kg (água destilada) + om	v.o. + i.m
10	<i>S. versicolor</i>	10mg/kg (ad)	v.o.
10	<i>S. versicolor</i>	20mg/kg (ad)	v.o.
10	<i>S. versicolor</i>	40mg/kg (ad)	v.o.
10	Estradiol	0,05 µg/kg (om)	i.m

Nota: n=número de animais; ad=água destilada; om=óleo de milho; v.o=via oral; i.m=via intramuscular.

As ratas foram tratadas durante sete dias consecutivos a cada 24 horas com três concentrações diferentes dos extratos 10, 20 e 40mg/kg. Após esse período os animais foram pesados e, em seguida, foram eutanasiados com sobredose de tiopental sódico 100 mg/kg por via intraperitoneal. O útero e os ovários foram retirados, através de um corte imediatamente abaixo de sua ligação com a cérvix e acima da altura dos ovários. Após desprezar o líquido retido no interior do útero foi feita a pesagem úmida, bem como a dos ovários, em balança analítica (0,001g). Para avaliação do efeito sobre outros órgãos, em especial os envolvidos nos processos metabólicos foram coletados rins, pulmão e fígado, que também foram pesados e posteriormente serão submetidos a estudos histopatológicos.

Os valores obtidos foram expressos como média \pm EPM e, na etapa *in vivo*, os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa ANOVA (One Way) para variáveis paramétricas e utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis seguido das comparações múltiplas pelo teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos. Em todas as etapas, o nível de significância estatística adotado foi de 5% ($p < 0,05$). O projeto foi previamente, ao início dos experimentos, aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal sob protocolo 014/11.

Resultados e Discussão

Um dos parâmetros utilizados para avaliar a presença de toxicidade no sistema reprodutor é a medida de massa de órgãos do trato genital, especialmente útero e ovários, pois quaisquer alterações nesses órgãos evidenciam toxicidade reprodutiva (MULLER et al., 2009). Observou-se que os pesos absolutos dos ovários não foram estatisticamente significativos entre os grupos tratados bem como quando comparados aos grupos controle (DMSO+H₂O) e controle positivo (estradiol). Quanto ao peso absoluto dos úteros houve um aumento significativo ($p < 0,001$) no grupo estradiol (controle positivo) quando comparado aos grupos controle, EESV 10, EESV 20 e EESV 40, sendo estes não diferentes entre si (Tabela 1) (Figura 1).

TABELA 1 – Média dos pesos absolutos de útero e ovários nos grupos controle, EESV10mg, EESV20mg, EESV40mg e estradiol após 7 dias de tratamento.

	Pesos absolutos (g)				
	Controle	EESV10	EESV20	EESV40	Estradiol
Útero	0,05 \pm 0,021	0,04 \pm 0,012	0,04 \pm 0,015	0,03 \pm 0,011	0,18 \pm 0,031
Ovário direito	0,02 \pm 0,006	0,02 \pm 0,008	0,02 \pm 0,007	0,01 \pm 0,004	0,02 \pm 0,007
Ovário esquerdo	0,02 \pm 0,008	0,02 \pm 0,003	0,02 \pm 0,006	0,01 \pm 0,005	0,02 \pm 0,004

EESV: Extrato etanólico de *Simarouba versicolor*. Dados em Média \pm erro padrão

O principal mecanismo que explica o efeito estrogênico é a presença de compostos denominados fitoestrógenos (FE) que são responsáveis pelas propriedades estrogênicas, por mimetizarem o efeito dos estrogênios endógenos em vários tecidos e sistemas enzimáticos (CLAPAUCH et al., 2002). Com os resultados apresentados neste estudo uterotrófico, sugere-se que o extrato etanólico da casca de *Simarouba versicolor* não interferiu diretamente no desenvolvimento uterino de ratas Wistar impúberes, variável utilizada como referência para a comprovação da atividade fitoestrogênica.

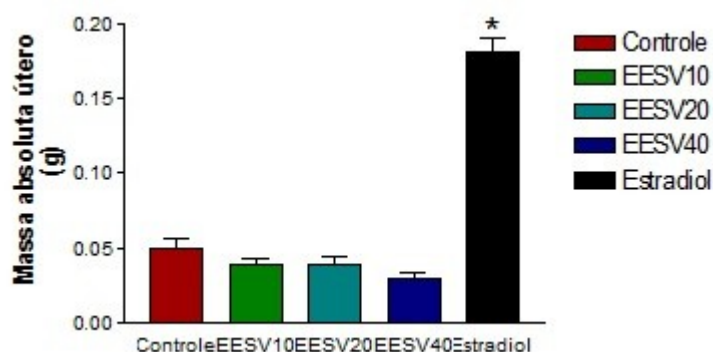


FIGURA 1 – Média dos pesos absolutos de útero nos grupos controle, EESV10mg, EESV20mg, EESV40mg e estradiol após 7 dias de tratamento. * $p < 0,001$

A avaliação do peso corporal de um animal é uma ferramenta para verificar se uma substância analisada apresenta propriedades toxicológicas (MULLER et al., 2009). No presente estudo, observou-se que não existiu diferença significativa ($p > 0,05$) no peso corporal entre os diferentes grupos experimentais EESV10, EESV20 e EESV40 após o tratamento com o extrato etanólico de *Simarouba versicolor* comparados aos grupos controle e controle positivo (estradiol). A média do peso corporal nos animais em estudo foi de 58,5 g. O teste ANOVA mostrou que os pesos absolutos dos órgãos rins, pulmão e fígado foram estatisticamente não significativos nos grupos tratados entre si bem como quando comparados aos grupos controles (Tabela 2). Estes resultados descartam a presença de toxicidade do extrato em estudo nas doses investigadas. A avaliação das massas absolutas dos órgãos não reprodutivos é importante, pois o pulmão, fígado e os rins são responsáveis pelo metabolismo e eliminação de xenobióticos e, em casos de toxicidade, podem ter a massa desses órgãos aumentada (MELLO, 2007).

TABELA 2 – Média dos pesos absolutos de rins, pulmão e fígado nos grupos controle, EESV10mg, EESV20mg, EESV40mg e estradiol depois de 7 dias de tratamento.

	Pesos absolutos (g)				
	Controle	EESV10	EESV20	EESV40	Estradiol
Rim direito	0,40± 0,081	0,38± 0,068	0,39± 0,091	0,35± 0,072	0,38± 0,110
Rim esquerdo	0,41± 0,113	0,47± 0,127	0,49± 0,144	0,34± 0,076	0,36± 0,086
Pulmão	0,55± 0,152	0,51± 0,118	0,49± 0,144	0,48± 0,110	0,54± 0,155
Fígado	3,08± 0,738	2,64± 0,619	2,77± 0,740	2,42± 0,671	2,48± 0,729

EESV: Extrato etanólico de *Simarouba versicolor*. Dados em Média ± erro padrão

Conclusão

Os dados analisados demonstram que o extrato etanólico de *Simarouba versicolor* não apresenta atividade estrogênica em ratas impúberes no teste considerado. Além disso, a ausência de alterações em órgãos não reprodutivos (rins, pulmão e fígado) indica que esse extrato nas doses estudadas não apresentou toxicidade sistêmica.

Apoio: UFPI.

Referências Bibliográficas

CLAPAUCH, R. et al. Fitoestrogênios: Posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 46, n. 6, 2002.

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

MULLER, J.C., GIULIANA G.K; BOTELHO, A. C; BUFALO, A. C; BOARETO; RATTMANN, Y.D; MARTINS,E.S; CABRINI,D.A; OTUKI, M.F; DALSENTER,P.R. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 12, p. 229–233, 2009.

MURKIES AL, WILCOX G, DAVIS SR. Clinical review 92: Phytoestrogens. **J Clin Endocrinol Metab** v. 83, p. 297-303, 1998.

Palavras-chave: Atividade estrogênica. Ratas impúberes. *Simarouba versicolor*.