

## **Avaliação da toxicidade da planta medicinal *Peumus boldus* durante o período gestacional de ratas Wistar**

### **Evaluation of the toxicity of the medicinal plant *Peumus boldus* during the gestational period in Wistar rats**

DOI:10.34117/bjdv7n6-424

Recebimento dos originais: 07/05/2021

Aceitação para publicação: 18/06/2021

**Luiz Fernando Cassaro**

Graduação em Medicina – PUC-SP – Campus Sorocaba

**Mário José Angelo Milani Junior**

Graduação em Medicina – PUC-SP – Campus Sorocaba

**Roberto Mota Júnior**

Mestre em Ciências da Saúde – USF – Campus Bragança Paulista

**Denise Gonçalves Priolli**

Pós-Doutorado – Universidade de Coimbra

**Thalita Rocha**

Pós-Doutorado – Newcastle University

**Priscila Randazzo-Moura**

Pós-Doutorado em Farmacologia – UNICAMP – Campus Campinas

priscilarandazzo@yahoo.com.br

#### **RESUMO**

As plantas medicinais são fontes de inúmeros compostos utilizados na produção de medicamentos para tratamento de sintomas dos mais variados. Sabe-se que, o *Peumus boldus* tradicionalmente conhecido por boldo, apresenta propriedades terapêuticas aplicadas a diversos distúrbios digestivos e hepáticos. Entretanto, como todo extrato natural, pouco se sabe sobre seus efeitos na gestação. A literatura sugere efeitos abortivo e teratogênico em animais prenhes tratados com *P. boldus*. Neste sentido, o presente estudo verificou os efeitos do extrato comercial de *P. boldus* durante o período gestacional de ratas Wistar. Os animais foram divididos em dois grupos: Controle (n=3; 1 ml de água destilada) e Tratado (n=6; 1,7mL/300g/dia de *P. boldus*). A administração oral de água destilada ou extrato aconteceu no 1º, 5º, 10º e 15º dias do período gestacional das ratas. Transcorridos 18 dias de gestação foi realizada a cesárea, bem como a avaliação da capacidade reprodutiva das ratas e vitalidade dos filhotes. As placentas e os fetos foram mensurados, e os fetos fixados (24h) em solução de formaldeído à 10% para análise dos parâmetros anatômicos e medidas: ântero-posterior do crânio, lateral-lateral do crânio, ântero-posterior do tórax, lateral-lateral do tórax, craniocaudal e caudal. Outros parâmetros também foram avaliados, tais como: implantação dos olhos e orelhas, membros superiores e inferiores, configuração dos dedos e orifício anal. A seguir, os fetos

foram desidratados em série crescente de etanol, clarificados em xilol e incluídos em parafina para microtomia (5 $\mu$ m) e corados com hematoxilina e eosina. Na análise histológica foram observados os tecidos dos seguintes órgãos: cérebro, coração, pulmão, fígado e rim. A capacidade reprodutiva, vitalidade dos filhotes, pesos dos fetos e placentas e análise macroscópica dos parâmetros morfológicos dos filhotes não demonstraram diferença significativa quando comparada com o grupo controle ( $p > 0,05$ ). Na análise histopatológica, não foram verificadas alterações significativas quando comparada ao grupo controle ( $p > 0,05$ ). Portanto, concluiu-se que o extrato comercial de *P. boldus*, na dose estudada, não induziu toxicidade materna e reprodutiva, uma vez que não apresentou efeitos deletérios para a gestante nem tampouco para o embrião e feto das ratas expostas a este fitoterápico. Porém, faz-se necessário estudos complementares, com doses maiores de *P. boldus* administrados a longo prazo, para garantir segurança no seu uso em gestantes.

**Palavras-chave:** *Peumus boldus*, histopatologia, capacidade reprodutiva, vitalidade dos fetos, boldo.

### ABSTRACT

Medicinal plants are sources of countless compounds used in the production of medicines to treat the most varied symptoms. It is known that *Peumus boldus*, traditionally known as “boldo”, has therapeutic properties applied to several digestive and liver disorders. However, like many natural extract, little is known about its effects when administered during pregnancy. The literature suggests that *P. boldus* has abortive and teratogenic effects in pregnant animals. For these purpose, the present study verified the effects of the herbal medicine during the gestational period of Wistar rats. The rats were divided into two groups: Control (n=3; 1 ml of distilled water) and Treated (n=6; 1.7mL/300g/day). Oral administration of water or extract occurred on the 1st, 5th, 10th and 15th day of gestation of the rats. After 18 days of gestation, a cesarean section was performed, as well as the evaluation of the reproductive capacity (fertility index) of the rats and vitality of the puppies. The placentas and fetuses were weighed, and the fetuses were fixed (24h) in 10% formaldehyde solution to perform the anatomical measurements: anteroposterior of the skull, lateral-lateral of the skull, anteroposterior of the thorax, lateral-lateral of the thorax, craniocaudal and caudal. Other parameters were also evaluated, such as: implantation of the eyes and ears, upper and lower limbs, configuration of the fingers and the anal orifice. After that, the fetuses were dehydrated in an increasing series of ethanol, clarified in xylol and included in paraffin for microtomy (5 $\mu$ m) and stained with hematoxylin and eosin. In the histological analysis, the tissues of the following organs were observed: brain, heart, lung, liver and kidney. The reproductive capacity, vitality of the puppies, weights of the fetuses and placentas, and macroscopic analysis of morphological parameters of the puppies showed no significant difference when compared to the control group ( $p > 0.05$ ). Regarding histopathology, no alterations were found when comparing to control group ( $p > 0.05$ ). Therefore, it was concluded that the commercial extract of *P. boldus*, in the studied dose, did not induce maternal and reproductive toxicity, since it did not present any harmful effects for the pregnant rat, nor for the embryo and fetus of the rats exposed to this herbal medicine. However, complementary studies are necessary, with larger doses of *P. boldus* administered in the long term, to ensure safety in its use in pregnant women.

**Keywords:** *Peumus boldus*, histopathology, reproductive capacity, vitality of fetuses, “boldo”.

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de terapias alternativas é amplamente disseminado na população mundial para tratar, curar e prevenir doenças, sendo considerada a prática medicinal mais antiga. De acordo com a declaração Alma-Ata (Rosa et al., 2011), a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que 85% das práticas tradicionais utilizadas pela população dos países em desenvolvimento inclui plantas medicinais, porém a crença de que produtos de origem vegetal são isentos de efeitos tóxicos e reações adversas é a principal preocupação sobre o uso de plantas medicinais (Clarke et al., 2007). Embriotoxicidade, teratogenia e abortivo são as reações adversas mais preocupantes, decorrentes do uso indiscriminado de fitoterápicos, já que os componentes orgânicos presentes nos extratos destas plantas podem atravessar a barreira hematoplacentária e causar danos ao feto, principalmente no primeiro trimestre gestacional (Araújo et al., 2010).

Segundo Rodrigues (2011) diversas plantas comumente utilizadas pela população brasileira apresentam efeitos abortivo, embriotóxico, teratogênico, como o alecrim (*Rosmarinus officinalis*), a arruda (*Ruta chalepensis*; *Ruta graveolens*), o chapéu de couro (*Echinodorus macrophyllus*), o eucálio (*Eucaliptus globulus*) e a canela (*Cinnamomum verum*). Dentre as plantas amplamente utilizadas, destaca-se o *Peumus boldus* que apresenta ação antidiarréica, colerética e colagoga, dentre outras (Newall et al., 2002). O primeiro composto isolado foi o alcalóide boldina, e muitos estudos surgiram a partir de então (Tavares e Takahashi, 1994; Kringstein e Cederbaum, 1995) seguido de outros dezoito alcaloides, como a secoboldina, N-metilsecoboldina, glaucina, laurolicina, anorreticulina, N-metil-urotetanina, laurotetanina, coclaurina, isoridina, bem como óleos essenciais, taninos e cumarinas (Fuentes et al., 2018).

Estudos realizados por Almeida et al. (2000) realizaram avaliação toxicológica do extrato hidroalcoólico de *P. boldus* e boldina em ratas prenhas e observaram blastocisto-toxicidade, alterações histológicas hepáticas e anatômicas de seus fetos, sugerindo moderação e cuidado na administração do boldo, especialmente nos primeiros três meses gestacionais. Nesta mesma linha, Moraes et al. (2018) também detectaram efeitos tóxicos nos fetos de camundongos fêmeas que receberam extrato de boldo até o 18º dia gestacional. Portanto, ensaios toxicológicos com plantas medicinais são extremamente importantes para garantir a segurança do uso na gestação. Neste sentido, este trabalho teve por objetivo estudar os efeitos tóxicos induzidos pelo extrato comercial de boldo durante o período gestacional de ratas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Ratos Wistar fêmeas e machos com idade de 90 dias, pesando entre 200-250g, mantidos em gaiolas abastecidas com água e ração *ad libitum*, em ambiente com temperatura constante e iluminação controlada (ciclo claro-escuro de 12h). Todos os procedimentos foram aprovados pela CEUA da PUC-SP, sob protocolos n° 2018/80 e n° 2019/118. O fitoterápico foi adquirido comercialmente, extrato hidroalcoólico com 0,1% de *Peumus boldus* Molina, lote 14.0010-1101.

Para avaliação da fertilidade e do desempenho reprodutivo das fêmeas, foi aplicado o método de Harém e a prenhes foi confirmada pela presença de espermatozoides no esfregaço, transcorridos 18 dias foi realizada a cesárea. Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais: grupo tratado (n=6) com administração única de *P. boldus* por via oral (gavagem, 1,7mL do extrato/300g de peso da rata) no 1°, 5°, 10° e 15° dias de gestação. Períodos estes pré-determinados pela importância da embriogênese (1° ao 5° dia de gestação) e organogênese (10° ao 15° de gestação) (Wilson e Warkanny, 1965). O grupo controle (n=3) recebeu somente água destilada, sob as mesmas condições do grupo tratado.

A cesárea aconteceu no 18° dia de gestação quando as ratas foram anestesiadas com halotano (anestésico inalatório) e após o procedimento cirúrgico os seguintes parâmetros foram avaliados para determinar o desempenho reprodutivo: número de corpos lúteos e de implantações (perda pré- e pós- implantação); número de fetos vivos; peso dos fetos e das placentas correspondentes. Finalizada a cirurgia e após a inspeção macroscópica dos fetos, estes foram sacrificados com aprofundamento da anestesia inalatória.

A análise macroscópica dos parâmetros morfológicos dos filhotes foi realizado da seguinte maneira: os fetos (n = 92) foram fixados em solução Formol a 10%, por aproximadamente 24 horas, e transferidos para etanol 70%. Com o auxílio de um paquímetro digital foram realizadas as medidas anatômicas: anteroposterior e látero-lateral do crânio, anteroposterior e látero-lateral do tórax, craniocaudal e caudal. Também foram avaliados outros parâmetros, como: implantação dos olhos e das orelhas, membros superiores e inferiores, os dedos das patas dianteiras e traseiras, inserção de cauda e a presença do orifício anal.

Na análise histopatológica, os fetos foram desidratados em sucessivas concentrações de etanol (80%, 90% e 100%), submetidos ao processo de clarificação em xilol, utilizando-se processador automático de tecidos (Lupetec PT 09 TS) e incluídos em

parafina utilizando dispensador de parafina (Lupetec DP 2010) e placa refrigerada (Lupetec PR 2010D). Os blocos foram submetidos à microtomia em micrótomo (Lupetec MRPO3) e os cortes longitudinais de 5  $\mu$ m de espessura coletados em lâminas de vidro e aderidos a mesma com auxílio de placa aquecida (Lupetec PA 2012).

As lâminas histológicas foram desparafinadas em xilol, hidratadas em concentrações decrescentes de etanol (100%, 95%, 80% e 70%), hidratadas em água destilada e coradas em Hematoxilina, por 5 minutos. Novamente, as lâminas foram lavadas em água corrente, coradas em eosina, por 3 minutos, desidratadas em concentrações crescentes de etanol e em xilol, e montadas com lamínula e bálsamo do Canadá sintético, para análise ao microscópio de luz (Nikon SE).

Os resultados, quando apropriado, foram analisados em programa específico (GraphPad Prisma 8) e apresentados com Média de experimentos (M)  $\pm$  Desvio Padrão da Média (DPM). Para comparar os tratamentos foram utilizados Testes de ANOVA e *Qui* Quadrado. O nível de significância adotado foi de 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

### 3 RESULTADOS

A constatação da prenhes das ratas foi confirmada pela presença dos espermatozoides em suspensão no esfregaço proveniente do lavado vaginal, de acordo com o relatado por Aguilar et al. (2014).

Durante o período gestacional das ratas foi realizada a pesagem no 1<sup>o</sup>, 5<sup>o</sup>, 10<sup>o</sup>, 15<sup>o</sup> dias de gestação e também no 18<sup>o</sup> dia de gestação antes de realizar a cesárea, tanto nos grupos controle como tratado. As médias de ganho ponderal de peso das ratas prenhes no grupo controle (n=3) foram: 23,39 $\pm$ 4,89 g (1<sup>o</sup> - 5<sup>o</sup> dia); 8,45 $\pm$ 2,22g (5<sup>o</sup> - 10<sup>o</sup> dia); 24,43 $\pm$ 6,78g (10<sup>o</sup> - 15<sup>o</sup> dia) e 25,08 $\pm$ 4,65g (15<sup>o</sup> - 18<sup>o</sup> dia). Já as médias de ganho ponderal de peso das ratas prenhes no grupo tratado (n=6) foram: 11,75 $\pm$ 7,13g (1<sup>o</sup> - 5<sup>o</sup> dia); 8,75 $\pm$ 4,11g (5<sup>o</sup> - 10<sup>o</sup> dia); 22,25 $\pm$ 3,4 g (10<sup>o</sup> - 15<sup>o</sup> dia) e 17,25 $\pm$ 7,8g (15<sup>o</sup> - 18<sup>o</sup>) (p>0,05 quando comparado ao grupo controle).

Na avaliação da vitalidade dos fetos observou-se que todos os fetos dos grupos controle (n=35) e grupo tratado (n=57) estavam vivos, portanto, vitalidade de 100%. Os corpos lúteos do grupo controle foi igual a 39 e o grupo tratado igual a 69, sem sinais de reabsorção nem tampouco perdas pré-implantação e pós-implantação significativas (p>0,05).

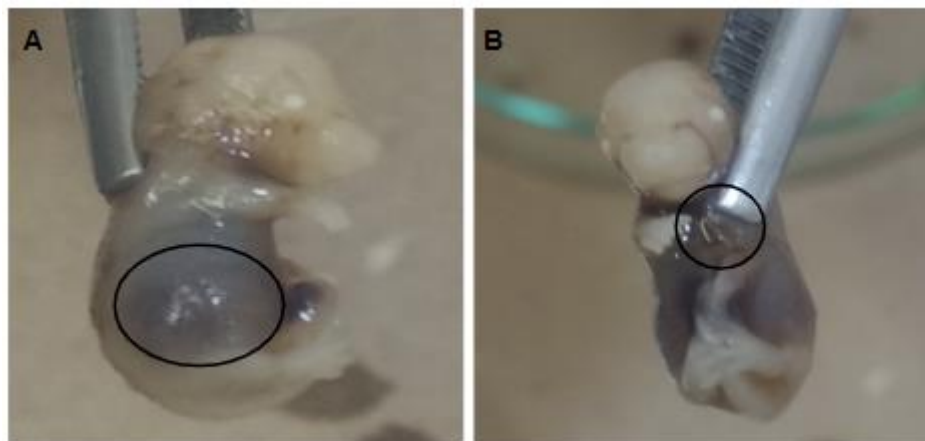
Todos os fetos e suas respectivas placentas foram pesados; o grupo controle apresentou a média dos pesos dos fetos  $0,92\pm 0,14$ g e das placentas de  $0,40\pm 0,07$ g. No grupo tratado, a média dos pesos dos fetos foi de  $0,93\pm 0,08$ g e das placentas foi de  $0,43\pm 0,08$ g e ambos os pesos (placentas e fetos) não foram significativamente diferentes quando comparados ao grupo controle ( $p>0,05$ ).

A análise macroscópica dos parâmetros morfológicos dos filhotes apresentou no grupo controle as seguintes média das medidas (cm): anteroposterior do crânio  $0,59\pm 0,07$ ; látero-lateral do crânio  $0,49\pm 0,07$ ; craniocaudal  $1,67\pm 0,11$ ; caudal  $0,49\pm 0,08$ ; anteroposterior do tórax  $0,51\pm 0,09$  e látero-lateral do tórax  $0,48\pm 0,07$ . No grupo tratado, as médias foram (cm): anteroposterior do crânio  $0,57\pm 0,05$ ; látero-lateral do crânio  $0,49\pm 0,06$ ; craniocaudal  $1,70\pm 0,13$ ; caudal  $0,50\pm 0,12$ ; anteroposterior do tórax  $0,55\pm 0,10$ ; látero-lateral do tórax  $0,52\pm 0,09$  ( $p>0,05$  quando comparado ao grupo controle).

Em relação a anatomia não foram observadas alterações nas proles das ratas do grupo controle ( $n=35$ ). Apenas 1 feto apresentou agenesia, ectrodactilia do membro inferior esquerdo, pata traseira esquerda, correspondendo a 2,85% de alteração no grupo. Os aspectos observados, medida do diâmetro do crânio, tamanho do tórax e dimensões da cauda, se mantiveram homogêneos entre os animais e não foram encontradas malformações. Também foram avaliados outros parâmetros como implantação dos olhos e das orelhas, dos membros superiores e inferiores, configuração dos dedos e o orifício do ânus, e estes apresentaram-se inalterados.

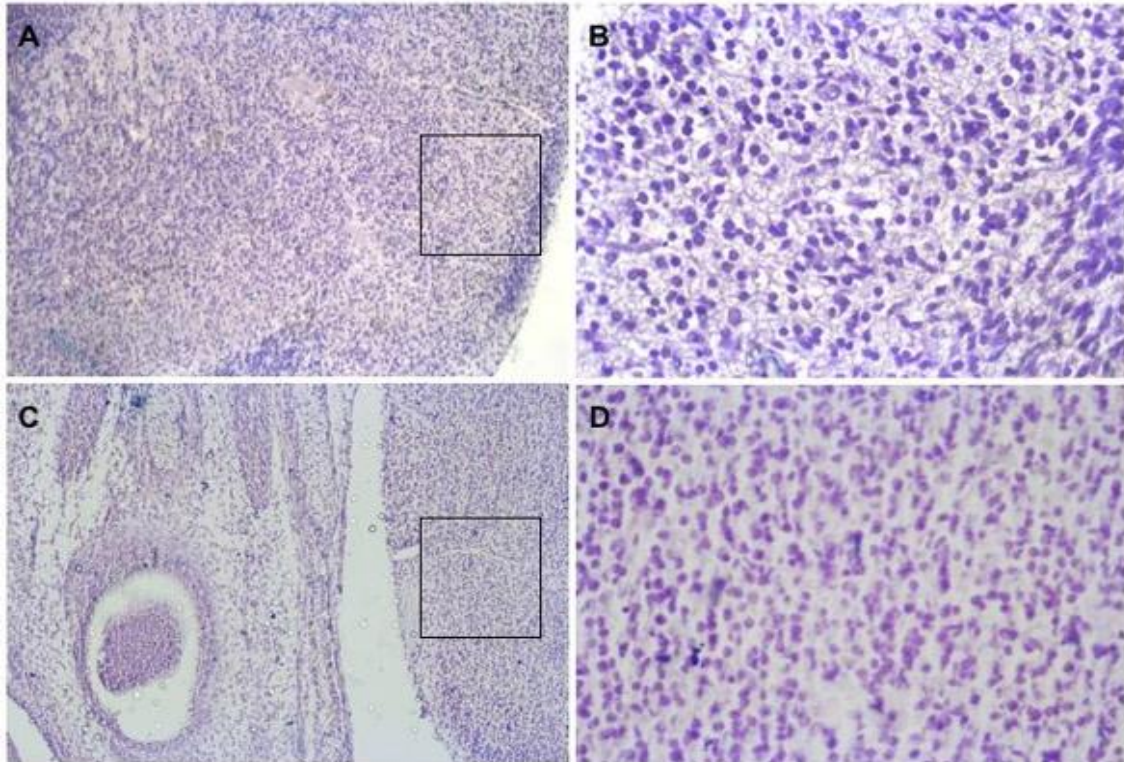
Em relação ao grupo tratado ( $n=57$ ), 3 fetos apresentaram hepatomegalia correspondendo a 5,26% e 3 fetos apresentaram alterações em membros, sendo caracterizada como agenesia de membro inferior esquerdo (5,26%) e/ou ectrodactilia da pata traseira esquerda (1,75%), 3 fetos apresentaram hepatomegalia e 1 feto apresentou ectrodactilia de membro superior esquerdo (Figura 1), sem diferença quando comparado ao grupo controle ( $p>0,05$ ).

**Figura 1:** Parâmetros anatômicos fetais externos dos filhotes de ratas prenhes do grupo tratado: dimensão hepática e formação dos dedos.

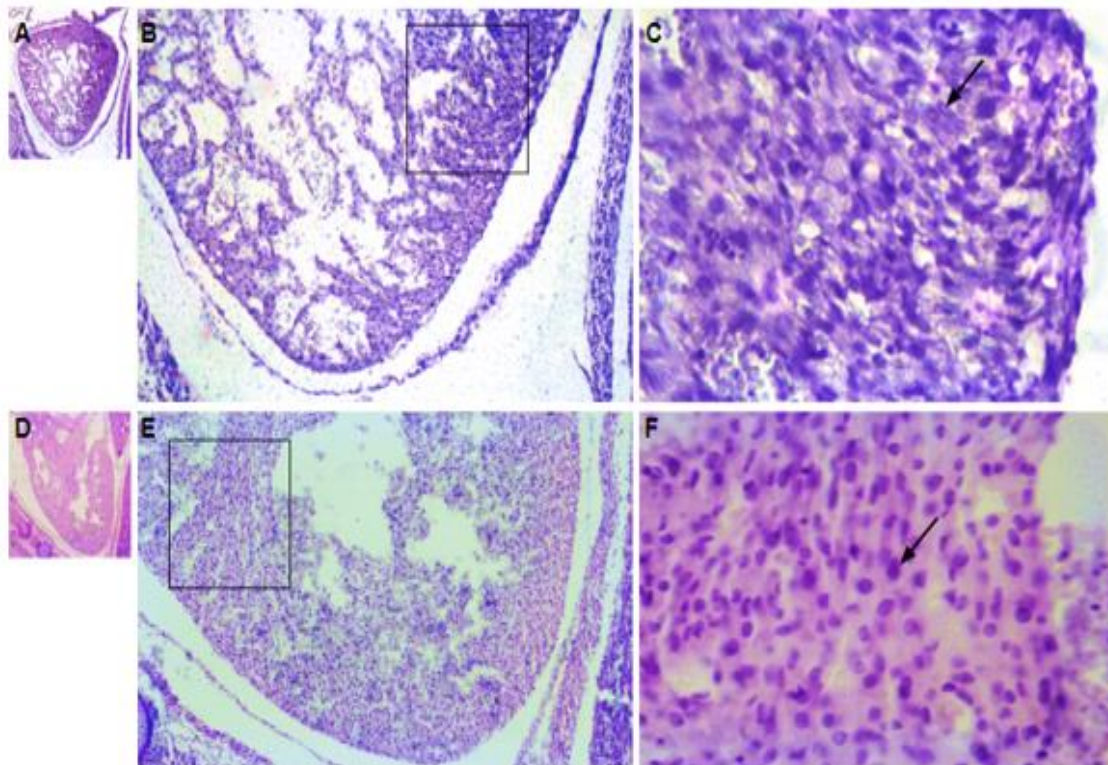


As análises histológicas do cérebro, coração, pulmão, fígado e rim dos filhotes dos grupos controle e tratado mostraram-se inalteradas. Ambos os grupos apresentaram tecido neural (neurônios e células da glia) sem evidência de apoptose ou edema tecidual (Figura 2). Também o coração apresentou miocárdio com cardiomiócitos inalterados (Figura 3). A análise do parênquima do pulmão dos animais de ambos os grupos mostrou a presença de bronquíolos em formação, porém sem sacos aéreos e/ou alvéolos (Figura 4). Os rins ainda não estão completamente diferenciados à 18<sup>o</sup> semana, apresentando néfrons em formação, na futura região cortical e o tecido conjuntivo se concentra na futura porção medular (Figura 5). Nos fígados dos animais observou-se a presença de hepatócitos se organizando em arranjo radial, em torno da veia centro-lobular, entremeados por capilares sinusoidais, porém o aspecto clássico de lóbulos hepáticos ainda não pode ser observado neste período gestacional (Figura 6). Mesmo nos animais com hepatomegalia o aspecto histológico normal foi mantido.

**Figura 2:** Imagem histológica representativa do cérebro dos animais, visão geral e detalhe em maior aumento, dos grupos controle (A, B) e tratado (C, D), respectivamente. Observar a distribuição normal dos neurônios e células da glia por todo o córtex cerebral em ambos os grupos. Aumentos: A, C = 100X; B, D = 400X.

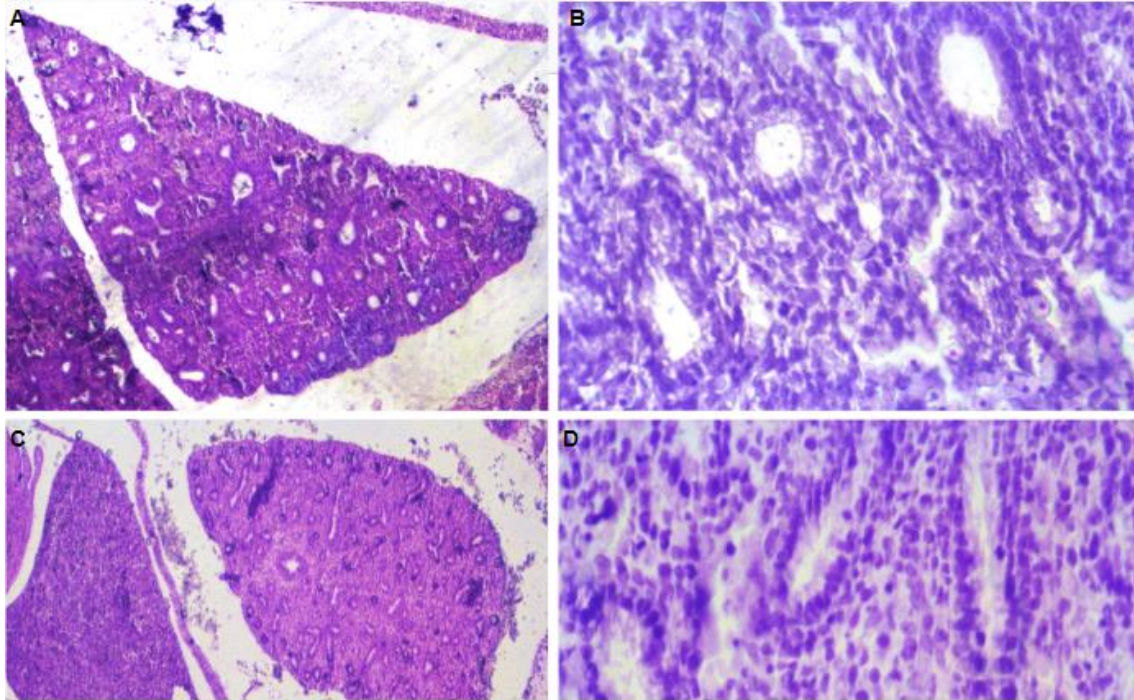


**Figura 3:** Imagem histológica representativa do coração dos animais, visão panorâmica, geral e detalhe em maior aumento, dos grupos controle (A, B, C) e tratado (D, E, F), respectivamente. Observar a distribuição normal dos cardiomiócitos (seta) por todo o miocárdio em ambos os grupos. Aumentos: A, D = 40X; B, E = 100X; C, F = 400X.

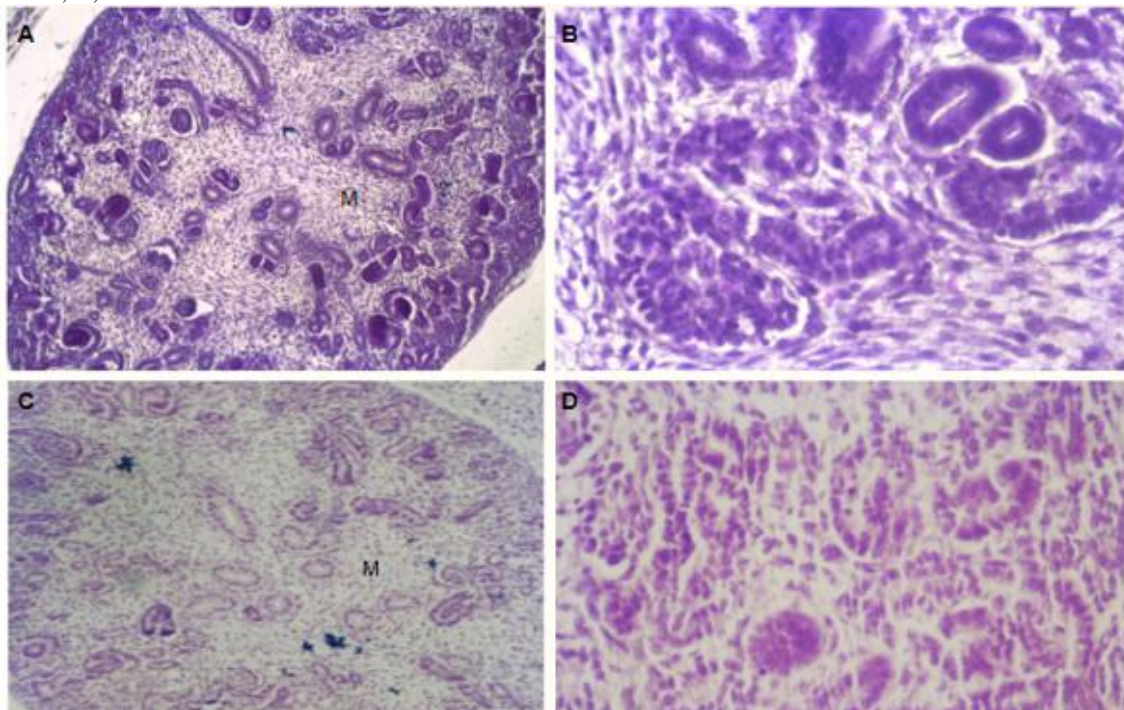




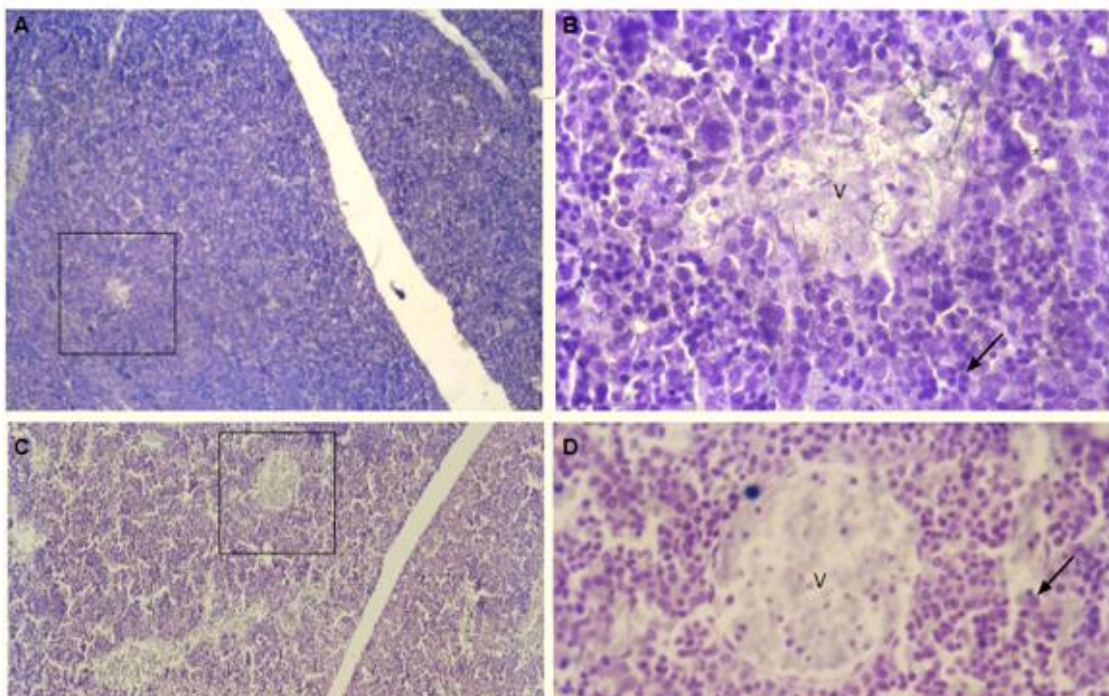
**Figura 4:** Imagem histológica representativa do pulmão dos animais, visão geral e em maior aumento, dos grupos controle (A, B) e tratado (C, D), respectivamente. Observar a distribuição normal dos bronquíolos por todo o parênquima pulmonar em ambos os grupos. Aumentos: A, C = 100X; B, D = 400X.



**Figura 5:** Imagem histológica representativa do rim dos animais, visão geral e em maior aumento, dos grupos controle (A, B) e tratado (C, D), respectivamente. Observar a distribuição normal dos néfrons (B, D) por todo o córtex renal e a formação da porção medular (M) em ambos os grupos. Aumentos: A, C = 100X; B, D = 400X.



**Figura 6:** Imagem histológica representativa do fígado dos animais, visão geral e detalhe em maior aumento, dos grupos controle (A, B) e tratado (C, D), respectivamente. Observar a distribuição normal dos hepatócitos (seta) por todo o parênquima em ambos os grupos. V = veia centro-lobular; \* = capilar sinusóide.



#### 4 DISCUSSÃO

O uso de plantas medicinais e fitoterápicos é uma prática disseminada mundialmente, inclusive é encorajada pela Organização Mundial de Saúde, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil (Newall et al., 2002). No ano de 2006, o Ministério da Saúde, lançou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), a qual oferece a fitoterapia aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) (Brasil, 2006).

Após a implantação da PNPIC, observou-se um aumento no número de municípios que ofertavam fitoterapia nas Unidades Básicas de Saúde. Contudo, é evidente que os usuários desta terapia alternativa, necessitam de melhores orientações baseadas em prescrições adequadas relacionadas à dosagem, possíveis interações medicamentosas e efeitos tóxicos, pois o fato de plantas medicinais serem de origem natural, criam o mito de que seu uso indiscriminado é eximido de efeitos colaterais (Leite e Schor, 2005).

A automedicação é algo muito frequente na população brasileira, principalmente em gestantes. Estudos relatam que existem muitos ativos de plantas que podem ter efeitos tóxicos, genotóxicos e cancerígenos quando usados continuamente. A idéia equivocada

de que plantas medicinais e fitoterápicos não causam efeitos colaterais representa um perigo, pois não existem estudos científicos que comprovem a eficácia da maioria das plantas e os efeitos que as diferentes doses e associações podem causar no organismo humano (Mello et al., 2001)

Inúmeras são as substâncias presentes em plantas medicinais que podem causar toxicidade reprodutiva, como por exemplo: o alecrim (*Rosmarinus officinalis*), a arruda (*Ruta chapelensis*), o boldo (*Peumus boldus*) (Almeida et al., 2000; Campesato, 2005; Gonzales et al., 2007; Rodrigues et al., 2011; Jardim, 2017), entre outras. Ao mesmo tempo em que os constituintes possuem relevantes efeitos farmacológicos, também podem apresentar efeito deletérios em determinado período gestacional.

A metodologia deste estudo é semelhante aos estudos realizados com extrato hidroacetônico de *Mayatenus ilicifolia* (Laura, 2009), extrato de guaco (*Mikania glomerata*) (Mendes, 2012) e do extrato aquoso de camomila (*Chamomilla recutita L.*) (Arruda et al., 2013).

O período gestacional é caracterizado por rápido ganho de peso destes animais devido ao acúmulo de tecido subcutâneo. A análise de seu ganho ponderal é de suma importância, pois é um dos parâmetros frequentemente utilizados como forma de analisar e determinar os efeitos toxicológicos de substâncias químicas. Este desenho experimental avaliou a toxicidade do extrato por meio da variação do ganho ponderal das ratas prenhas, onde ambos os grupos controle e tratado obtiveram ganho ponderal durante todo o período gestacional, apesar de mais evidente no grupo controle ( $p > 0,05$ ); similar aos resultados obtidos no estudo de Salinas et al. (2013).

Os efeitos tóxicos dos extratos de plantas podem influenciar diretamente na fertilidade do animal e da prenhes subsequentemente, pois, caso observada a perda embrionária, seja por aceleração ou retardo das nidações uterinas, comprova-se os efeitos tóxicos da substância estudada (Almeida et al., 2000). A correlação entre os números de blastocistos implantados e aqueles que não se desenvolveram é estabelecida a partir da evidência de reabsorção e perda pós-implantação. Desse modo, quanto maior o número de reabsorções, maior será a proporção de fetos que tiveram seu desenvolvimento interrompido (Almeida et al., 2000; Nepomuceno et al., 2005).

Assim, perda pré- e pós-implantação dos blastocistos é de fundamental importância para analisar os possíveis efeitos tóxicos causados pelo extrato de *P. boldus* durante a gestação, uma vez que é possível distinguir os efeitos embriotóxico e toxicidade uterina causada por este fitoterápico. Neste estudo, não foram observados sinais de

reabsorção ou perdas significativas pré- e pós-implantação, na concentração eleita, similar aos resultados obtidos nos estudos de Nepomuceno et al. (2005), mas distinto dos achados de Almeida et al. (2000) que apontou aumento significativo da perda embrionária induzido por extrato hidroalcoólico de *P. boldus* e boldina. Jardim (2017) analisou a administração de chá de *P. boldus* e boldina durante o período gestacional de ratas e observou alterações no desempenho reprodutivo das fêmeas em relação a perda pré- e pós-implantação, concluindo portanto que, o uso destas substâncias devem ser em evitadas em gestantes.

Em relação aos corpos lúteos, os resultados não evidenciaram alterações significativas na quantidade de corpos lúteos entre os grupos controle e tratado. Evidência que também corrobora com os achados em outros trabalhos que utilizaram *Hypericum perforatum* (Nepomuceno et al., 2005) no qual não foram observadas alterações no processo de implantação.

Os pesos das placentas e dos fetos não apresentaram diferença significativa quando comparada ao grupo controle, também corroborando com Almeida et al. (2000). Outros trabalhos utilizando fitoterápicos diferentes, observaram diferenças significativas nos pesos fetais e das placentas dos grupos tratados com *Mikania glomerata* (Mendes, 2012) ou com *Chamomilla recutita* (Arruda et al., 2013).

Os fetos foram analisados macroscopicamente por meio de parâmetros morfológicos externos e não apresentaram alterações significativas quando comparado ao grupo controle. Diferentemente dos resultados aqui observados, outros estudos verificaram alterações significativas causadas por extratos de *Plathymenia reticulata* Benth por Albuquerque (2009) e *Mikania glomerata* Sprengel por Mendes (2012). Magalhães et. al. (2020) observaram que os fetos obtidos das ratas prenhes que receberam o extrato hidroalcoólico de *Cissus sulcicaulis* (parreira brava) apresentaram alterações em todos os parâmetros avaliados na análise esquelética e viscerais.

Alguns estudos com extratos de plantas revelaram que seus componentes (óleos vegetais) apresentaram alterações histo e imunopatológica, como lesões teciduais hepáticas inflamatórias do parênquima ou crônicas de pequena e média intensidade, evidenciando a hiperplasia das células de Kupffer, fibrose incipiente e esteatose microvesicular. Dentre essas plantas, temos o *Heliotropium indicum* L. (crista de galo), apresenta em sua composição alcalóides e pirrolizidínicos, causando afecção hepática crônica (Mattos et al., 2018) e o *Symphytum officinalis* L. (confrei) que também apresenta

em sua composição alcalóides e pirrolizidínicos, causando dor abdominal e destruição dos hepatócitos, além de estimular a motilidade uterina (Dias et al., 2013).

No presente estudo, as análises microscópicas compararam o tecido nervoso, o tecido muscular estriado cardíaco, o pulmão, o fígado e os rins dos fetos. Apenas em um dos fetos observou-se a ausência de dedos em uma das patas (ectrodactilia) e em três fetos observou-se hepatomegalia sem alteração tecidual. As malformações encontradas estiveram relacionadas as fases de embriogênese e organogênese, como a ocorrência das diferenciações dos brotos para formar os membros superiores e inferiores, a partir do mesoderme, e a vesícula hepatobiliar, que tem origem endodérmica. As análises histológicas evidenciaram características teciduais e celulares semelhantes entre os fetos dos grupos controle e tratado que não foram afetados pela dose de *P. boldus* estudada. Almeida et al. (2000), entretanto, observaram alterações anatômicas de seus fetos e histológicas hepáticas, sugerindo moderação na administração do boldo nos primeiros três meses gestacionais.

Diante dos experimentos realizados neste estudo, concluiu-se que o extrato comercial de *P. boldus*, na dose estudada, não induziu toxicidade materna e reprodutiva, uma vez que não apresentou efeitos deletérios para a gestante nem tampouco para o embrião e feto das ratas expostas a este fitoterápico. Porém, faz-se necessário estudos complementares, com doses maiores de *P. boldus* administrados a longo prazo, para garantir segurança devidamente comprovada, qualidade e eficácia, contribuindo para a consolidação terapêutica no seu uso em gestantes.

## REFERÊNCIAS

AGUILAR, L.; LOPES, C.M.; BARBIERI, D.S.; ROCHA, T.; RANDAZZO, M. P. Toxic effects of glibenclamide in fetuses of normoglycemic rats: an2211' alternative therapy for gestational diabetes mellitus. **Open Veterinary Journal**, v. 4, p. 59–64, 2014.

ALBUQUERQUE, L. B. L. **Estudos in vitro e in vivo da *Plathymenia reticulata* Benth.** Dissertação de Mestrado. Universidade de Sorocaba, 2009.

ALMEIDA, E. R.; MELO, A. M.; XAVIER, H. Toxicological evaluation of the hydro-alcohol of the dry leaves of *Peumus boldus* and boldine in rats. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 99–102, 2000.

ARAÚJO, R. C. Estudo Toxicológico das Drogas. Correlação Clinicopatológica. In: PENILDON, S. **Farmacologia**. 8<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 178–195, 2010.

ARRUDA, J. T.; APPOBATO, F. C.; MAIA M. C. S.; SILVA, T. M.; APPOBATO, M. S. Efeito do extrato aquoso de camomila (*Chamomilla recutita* L.) na prenhez de ratas e no desenvolvimento dos filhotes. **Rev. Bras. Plantas Med.** v. 15, p. 103–154, 2013.

BRASIL. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS. Ministério da Saúde. 2006. 92 p.

CAMPESATO, V. R. **Uso de plantas medicinais durante a gravidez e risco para malformações congênitas.** Dissertação (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2005. v. 1, p. 40–44, 2005.

CLARKE, J. H. R.; RATES, S. M. K.; BRIDI, R. Um alerta sobre o uso de produtos de origem vegetal na gravidez. **Infarma**, v. 19, p. 41–48, 2007.

DIAS, T. R.; TOMÁS, G.; TEIXEIRA, N. F.; ALVES, M. G.; OLIVEIRA, P. F. White Tea (*Camellia sinensis* (L.)): Antioxidant Properties and Beneficial Health Effects. **Int J Food Sci Nutr Diet**. v. 2, p. 19–26, 2013.

FUENTES, B. G., CASTRO, S. S. L. L.; ACEVEDO, F. W.; TIRAPEGUI, C.; MATTAR C.; CASSEL, B.K. Variação de teor Alcalóide de *Peumus Boldus*. **Fitoterapia**, v. 127, p. 179–185, 2018.

GONZALES, J. R.; BENAVIDES, V.; ROJAS, R.; PINO, J. Efecto embriotóxico y teratogénico de *Ruta chalepensis* L. « ruda », en ratón (*Mus musculus*). **Rev. Peru Biol.**, 13, 223–225, 2007.

KRINGSTEIN, P.; CEDERBAUM, A. I. Boldine prevents human liver microsomal lipid peroxidation and inactivation of cytochrome P4502E1. **Free Radical Biol. Med.**, v. 18, p.559–563, 1995.

JARDIM, L. H. **Avaliação da administração do alcaloide boldina em ratas Wistar durante o período gestacional sobre variáveis reprodutivas e comportamentais.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

LAURA, A. L. C. **Efeitos da ingestão de extrato hidroacetônico de *Maytenus ilicifolia* e hidroetanólico de *Achyrocline alata* em ratas prenhes e seus fetos.** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2009.

LEITE, S. N.; SCHOR, N. Fitoterapia no Serviço de Saúde: significados para clientes e profissionais de saúde. **Saúde em debate**, v. 29, p. 78–85, 2005.

MAGALHÃES, S. A.; MARCONDES, L. Z.; DUARTE, B. R.; CRUZ-LOPES, L.; GERENUTTI, M. Neurotoxicological study about a medicinal plant of *Cissus sulcicaulis* Baker in pregnancy rats. **Braz. J. of Develop.**, v. 6, p. 8167–8187, 2020.

MATTOS, G.; CAMARGO, A.; SOUSA, C. A.; ZENI, A. L. B. Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: percepção dos profissionais. **Cien. Saúde Colet.**, v. 23, p. 3735–3744, 2018.

MELLO, J. R. B.; LANGELOH, A.; HABERMEHL, G.; KREBS, H. C.; BATATINHA, M. J. M.; ALMEIDA, C. R. C.; BASTOS, F. C.; BASSANI, M. L.; BARUFALDI, C. M.; ALVARES, F. T.; FRANCISCO, D. **Avaliação do extrato aquoso de *Crotalaria retusa* Leguminosae sobre a fertilidade de ratas.** Faculdade Veterinária UFRGS, v. 25, p. 34–42, 2001.

MENDES, C. F. **Efeito do extrato de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) sobre a implantação e o desenvolvimento embrionário e placentário em camundongos.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 2012.

MORAES, S. G.; FREIRIA, G. F.; ZAMBOTTI, T. R. Efeitos dos extratos de *Peumus boldus* e *Foeniculum vulgare* sobre o desenvolvimento embrionário e placentário em camundongos. *Rev. da Fac. Ciências Médicas Sorocaba*. 2018; 20 (Supl.).

NEPOMUCENO, F.; LAS CASAS, L.; PETERS, V. M.; GUERRA, M. O. Desenvolvimento embrionário em ratas tratadas com *Hypericum perforatum* durante o período de implantação. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 15, p. 224–228, 2005.

NEWALL, C. A.; ADERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Fitoterapia-Plantas Mediciniais: Guia para Profissionais da Saúde.** São Paulo: Premier, p.57–58, 2002.

RODRIGUES, H. G. MEIRELES, C. G.; LIMA, J. T. S.; TOLEDO, G. P.; CARDOSO, J. L.; GOMES, S. L. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Rev. Bras. Plantas Med.** v. 13, p. 359–366, 2011.

ROSA, C, DA, CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U.; Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Cien. Saúde Colet.**, v. 16, p. 311–318, 2011.

SALINAS, H. R.; VIELMA, A. Z.; ARISMEDI, M. N.; BORIC, M. P.; SÀEZ, J. C.; VERLADE, V. Boldine prevents renal alterations in diabetic rats. **J. Diabetes Res.**, v. 2013, p. 7–9, 2013.

TAVARES, D. C.; TAKAHASHI, C. S. Avaliação do potencial genotóxico do alcalóide boldina em sistemas celulares de mamíferos in vitro e in vivo. **Mutat. Res.**, v. 321, p. 139–145, 1994.

WILSON, J. C.; WARKANY J. **Teratologia: princípios e técnicas Chicago.** University of Chicago Press., p. 47–74, 1965.