



Avaliação histopatológica em ratos após tratamento agudo com o extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L.

Saulo R. Mariz,^{*1} Maria S. T. Araújo,² Gilberto S. Cerqueira,² Washington C. Araújo,³ José C. Duarte,³ Margareth F. F. Melo Diniz,³ Isac A. Medeiros³

¹Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão, Rua 13 de maio, 506, Centro, 65010-6000 São Luis-MA, Brasil,

²Hospital Universitário "Lauro Wanderley", Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa-PB, Brasil,

³Laboratório de Tecnologia Farmacêutica "Prof. Delby Medeiros", Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa-PB, Brasil

RESUMO: A *Jatropha gossypifolia* L. apesar de ser usada na medicina popular com finalidades diversas, é uma espécie classicamente catalogada como tóxica. Este trabalho teve como objetivo a pesquisa de alterações histopatológicas em vísceras de ratos sob tratamento agudo com o extrato etanólico (EE) da *Jatropha gossypifolia* L. Ratos Wistar foram tratados por via oral (gavagem) com doses únicas do extrato de até 5 g/kg e observados por 14 dias. Após esse período, os animais foram sacrificados por tração cervical e as vísceras foram coletadas. O coração, o fígado e o rim foram seccionados por incisão sagital e os pulmões submetidos à perfusão via traquéia, com solução de formol a 10%. As secções teciduais foram processadas conforme os métodos habituais, coradas pela hematoxilina-eosina e tricômico e observadas ao microscópio óptico. Apenas nos animais tratados com a maior dose do extrato (5 g/kg) foram observadas alterações em fígado e pulmão evidenciadas por resposta inflamatória e estimulação do sistema imunitário. Estes resultados indicam uma toxicidade aguda oral relativamente baixa; entretanto, corroboram com os indícios de hepatotoxicidade já publicados, expondo ainda um potencial de toxicidade pulmonar do produto, o que ressalta a importância de estudos toxicológicos de longa duração com o EE da espécie *Jatropha gossypifolia* L.

Unitermos: *Jatropha gossypifolia*, Euphorbiaceae, toxicidade aguda, estudo histopatológico.

ABSTRACT: "Histopathological evaluation in rats after acute treatment with the ethanol extract from aerial parts of *Jatropha gossypifolia* L". *Jatropha gossypifolia* L. has been used in folk medicine in Brazil despite its classification as a toxic plant. The aim of this work was the assessment of histopathological alterations in rats after acute treatment with the ethanol extract (EE) from *Jatropha gossypifolia* L. Wistar rats were treated by gavage with single doses of EE until the limit dose of 5 g/kg (w.b.). 14 days after treatment the rats were sacrificed and the viscera were collected. The heart, liver and kidney were sectioned by sagittal incision and the lung submitted to perfusion with phormol (10%). The histological sections were processed by the usual methods in hematoxilin-eosin and trichrome staining and were observed through optical microscopy. Only in treated rats with 5 g/kg (w.b.) we observed some alterations in the liver and lung that means inflammatory response and immune activation. These results indicate a low oral acute toxicity, in relative terms, however, it was confirmed the hepatic toxicity already reported and showed the importance of long-term toxicological studies of the EE from *Jatropha gossypifolia* L.

Keywords: *Jatropha gossypifolia*, Euphorbiaceae, acute toxicity, histopathological study.

INTRODUÇÃO

A importância das pesquisas com plantas medicinais em países em desenvolvimento, como o Brasil, se dá por diversos motivos dentre os quais destacamos o fato de que, apesar de sermos o país com a maior biodiversidade vegetal do mundo, o crescimento de pesquisas nessa área é inferior a 10% ao ano. Tal fato dificulta o uso racional de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos pela população em geral,

devido à carência de informações adequadas sobre aspectos como eficácia e segurança desses produtos. Isso ainda estimula a crescente exclusão de espécies nativas da medicina e dos guias farmacêuticos oficiais (Brasil, 1998; Torres et al., 2005; Silva et al., 2006; Brandão et al., 2006 & 2008).

O objeto do presente trabalho é mais um exemplo da importância desse tipo de estudo. A espécie *Jatropha gossypifolia* L., conhecida no Brasil como "pião-roxo", entre outros nomes, é usada popularmente

* E-mail: sjmariz22@hotmail.com, Tel. +55-83-91073414

para o tratamento de várias enfermidades (Pio-Corrêa, 1984; Mariz, 2007). Alguns desses usos têm sido respaldados por estudos químicos e/ou farmacológicos, entre os quais se pode destacar a recente demonstração de um significativo potencial hipotensor do extrato etanólico dessa espécie (Abreu et al., 2003). Poucos estudos têm sido realizados com produtos de *Jatropha gossypifolia* L, usados na medicina popular, de modo a se conhecer melhor uma eventual toxicidade destes e se contribuir com a segurança na utilização terapêutica dessa espécie (Mariz, 2007).

Assim, iniciou-se a avaliação da toxicidade do extrato etanólico de *Jatropha gossypifolia* pelos estudos toxicológicos agudos. Foi demonstrado que, apesar de apresentar baixa toxicidade aguda oral em ratos tratados com doses únicas de até 5 g/kg, o produto gerou efeitos tóxicos significativos nos sistemas neurológico, hepático e renal. Apesar de o extrato ter produzido mortalidade entre machos tratados com as doses de 4 g/kg (16,6%) e 5 g/kg (66,6%) e do 3º ao 10º dia após o tratamento, o exame macroscópico das vísceras permitiu observar-se alterações apenas em alguns órgãos dos animais tratados com a maior dose experimental (5 g/kg) e que morreram ao longo do experimento (machos). Tais alterações se constituíram em mudanças na coloração e consistência de coração, pulmão e fígado, fato que já ressaltava a importância da realização de exames histopatológicos para uma melhor avaliação do potencial inflamatório e necrosante do produto (Mariz et al., 2006).

O presente trabalho apresenta um estudo histopatológico de vísceras de ratos após tratamento agudo com o produto avaliado, realizado não apenas para atender as exigências da resolução Nº 90 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2004), mas, principalmente, com o intuito de investigar a capacidade do extrato em produzir alterações histológicas em fígado, pulmão, rins e coração destes animais.

MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas (folhas e caules) de *J. gossypifolia* foram coletadas no município de Santa Rita (PB) no período de junho a agosto de 2004 e identificado pelo Herbário "Lauro Pires Xavier" da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), onde se encontra um exemplar representativo da espécie registrado sob o código: Agra & Góis 4192 (JPB). O extrato etanólico de *J. gossypifolia*, produto avaliado nesse estudo, foi preparado de acordo com os métodos habituais. Foram utilizados ratos Wistar albinos (*Rattus norvegicus*) adultos. Os machos pesavam entre 250 g a 350 g e as fêmeas (150 g - 250 g) eram nulíparas e não grávidas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério "Prof. Dr. Thomas George" do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF-UFPB), mantidos sob condições ambientais padronizadas e alimentados com ração e água potável à vontade (Mariz et al., 2006; Mariz, 2007). Os protocolos experimentais obedeceram

aos atuais preceitos éticos e técnicos (Jacobson-Kram & Keller, 2001; Andersen et al., 2004; Brasil, 2004; Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 2004) tendo sido aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) do LTF-UFPB mediante certidão Nº 0105/06.

Os animais foram tratados por gavagem inicialmente com a dose de 5 g/kg do EE de *J. Gossypifolia* (n = 6 por dose e sexo) e posteriormente com 4 doses inferiores a 5 g/kg, a saber: 1,2 g/kg; 1,8 g/kg; 2,7 g/kg e 4,0 g/kg (n = 6 animais por dose e por sexo). Ao grupo controle com 12 animais (6 machos e 6 fêmeas) administrou-se água, veículo de ressuspensão do extrato.

A coleta das vísceras (fígado, rins, coração e pulmões) ocorreu no décimo quinto dia após o tratamento e se deu pelo sacrifício (tração cervical) de dois dos animais sobreviventes de cada grupo. Seccionou-se o coração, o fígado e os rins por incisão sagital e os pulmões foram submetidos à perfusão via traquéia com solução de formol a 10%. As secções teciduais foram fixadas em formalina tamponada e após 24 horas, resseccionadas para processamento histopatológico: desidratação com séries crescentes de álcool (70° a 100°) seguida de diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina, segundo os métodos habituais (Michalany, 1998). Em micrótomo, seccionou-se os fragmentos tissulares em espessura de 3,0 µM com subsequente coloração por hematoxilina-eosina e tricômico, para exame microscópico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame histopatológico das vísceras dos animais sobreviventes ao tratamento agudo com doses do EE de *Jatropha gossypifolia* de até 5 g/kg, não detectou alterações relevantes tanto nos animais do grupo controle quanto naqueles tratados com doses de até 4,0 g/kg. Algumas alterações pouco significativas, que foram observadas em órgãos dos animais tratados com a maior dose (5 g/kg) e que foram necropsiados, são descritas a seguir.

O fígado de animais tratados com o produto avaliado apresentou arquitetura lobular com veias hepáticas terminais de paredes finas, regularmente distribuídas, chamando a atenção a presença de moderada congestão venular associada a fenômenos de dilatação e congestão sinusoidais. No seio do lóbulo, embora os hepatócitos tenham se apresentado na grande extensão do parênquima como elementos isomorfos, foram identificados raros e isolados focos de hepatocitólise, para os quais houve afluxo inflamatório mononuclear. Essa lesão era acompanhada de fibrose estromal mínima, perissinusoidal, em zona 3, expressa pela coloração do vermelho picrossirius. Os espaços portais e a interface portoparenquimatosa estavam destituídos de reação inflamatória. Em machos, observou-se congestão venosa portal.

Nos pulmões, o extrato avaliado na dose de

5 g/kg (v.o.) promoveu alargamento dos lóbulos em decorrência de processo inflamatório, observando-se, em adição, erosão de mucosa bronquiolar, associada à exsudação linfocitária e neutrocitária. Em machos, essa exsudação também ocupou lumes das vias respiratórias bronquiolares. Septos conjuntivos interlobulares e interstício peribronquiolar foram sede de agregados linfóides não encapsulados. Os alvéolos apresentaram-se com paredes espessas em decorrência de exsudação linfocitária e neutrocitária. Em fêmeas, o espaço aéreo luminal mostrava-se ora ocupado por edema (transudato), ora por importante exsudação inflamatória mista. A rede vascular apresentou-se fina e regularmente distribuída, encontrando-se congesta em machos.

Nos rins, o produto estudado não promoveu alterações histológicas em ambos os sexos. A arquitetura lobular estava preservada com pirâmides medulares recobertas por tecido cortical. A córtex apresentou glomérulos regularmente distribuídos, cápsula de Bowman fina, com espaço de refração artefactual além de tufo capilares finos e mesângio delicado. Os túbulos contorcidos proximais e distais e o segmento do ducto coletor não evidenciaram particularidades histológicas, do mesmo modo que as alças de Henle e ductos coletores da pirâmide medular e o sistema pielocalicial e ainda, as colunas de Bertin da pélvis renal. Não foi observada reação inflamatória tampouco fibrose no interstício (matriz). As únicas alterações dignas de nota foram a ocorrência de congestão venosa que deve estar relacionada com os procedimentos técnicos empregados para fixação do órgão com formalina e a presença de um foco de adiponecrose no tecido adiposo periférico representado pela presença de exsudação histiocítica com padrão xantomatoso.

No coração dos animais tratados com o EE de *Jatropha gossypifolia*, também não foram evidenciadas alterações histopatológicas em ambos os sexos. O epicárdio, revestido por células pavimentosas mesoteliais, exibia tecido fibroconjuntivo, laxo, com vasos e filetes neurais, às vezes, em meio a tecido adiposo. O miocárdio representado por fibrocélulas (rabiomiócitos), anastomosantes, com estriações transversais e núcleos únicos ou duplos, centralmente posicionados. O endocárdio possuía endotélio apoiado em delgada membrana basal e revestia cavidades e válvulas cardíacas. As válvulas cardíacas apresentaram porção central formada por tecido fibroconjuntivo denso e revestimento endotelial.

Desse modo, pode-se afirmar que a avaliação histológica em vísceras de ratos sob tratamento agudo com dose única de 5 g/kg do extrato etanólico de *J. gossypifolia*, realizada neste trabalho, constatou que em fígado e pulmões ocorreram agressões evidenciadas basicamente, por resposta inflamatória e estimulação do sistema imunitário. Esses efeitos, embora discretos, confirmam os indícios de hepatotoxicidade já descritos anteriormente (Mariz et al., 2006), além de acrescentarem a informação de que o potencial irritativo e inflamatório do

produto também pode ser observado no tecido pulmonar.

Entretanto, cabe considerar que tais alterações foram encontradas apenas nos animais tratados com a maior dose experimental (5 g/kg). Essa dose corresponde a 20 vezes a maior dose hipotensora do estudo de Abreu et al. (2003). Tal fato aponta para um significado clínico pouco relevante desses dados que podem ser compreendidos mais como resultado de uma sobrecarga do produto avaliado do que como consequência de uma ação tóxica significativa do extrato.

De qualquer modo, diante dos indícios da possibilidade do produto promover alterações histológicas no fígado e pulmão, convém se realizar a avaliação toxicológica crônica do extrato etanólico de partes aéreas (folhas e caule) da espécie em estudo.

CONCLUSÕES

O tratamento agudo de ratos Wistar com o extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L promoveu alterações histopatológicas pouco significativas e apenas em fígado e pulmão dos animais tratados com a maior dose experimental (5 g/kg) e avaliados pelo presente estudo, confirmando relato anterior de que o produto possui toxicidade aguda oral relativamente baixa. Apesar das alterações observadas terem ocorrido apenas em dose muito elevada, sugere-se a continuidade dos estudos toxicológicos mediante a avaliação da toxicidade crônica do produto.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) que, através do Programa de Qualificação Interinstitucional (PQI), financiou esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Abreu IC, Marinho ASS, Paes AMA, Freire SMF, Olea RSG, Borges MOR, Borges ACR 2003. Hypotensive and vasorelaxant effects of the ethanolic extract from *Jatropha gossypifolia* L. in rats. *Fitoterapia* 74: 651-657
- Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães LE, Tufik S 2004. *Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação*. São Paulo: UNIFESP.
- Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM 2006. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 16: 408-420.
- Brandão MGL, Zanetti NNS, Oliveira GRR, Goulart LO, Monte-Mor RLM 2008. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 18: 127-134.
- Brasil 1998. Primeiro relatório nacional para a conservação sobre diversidade biológica: Brasil. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia

- Legal, Brasília.
- Brasil 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução - RE nº 90/2004. Normas para estudos toxicológicos de produtos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 de março de 2004.
- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal 2004. *Legislação e Ética. Resolução 592*. Disponível em: <<http://www.meusite.com.br/COBEA/>>. Acesso em 01 Ago. 2004.
- Jacobson-Kram D, Keller KA 2001. *Toxicology Testing Handbook*. New York: Marcel Dekker.
- Mariz SR 2007. *Estudo Toxicológico pré-clínico de Jatropha gossypifolia L.* 186p. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba.
- Mariz SR, Cerqueira GS, Araújo WC, Duarte JC, Melo AFM, Santos HB, Oliveira K, Diniz MFFM, Medeiros IA 2006. Estudo toxicológico agudo do extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L em ratos. *Rev Bras Farmacogn* 16: 372-378.
- Michalany J 1998. *Técnica Histológica em Anatomia Patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico*. 3ª ed. São Paulo: Editora Michalany Ltda.
- Pio-Corrêa M 1984. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal v. 5: p.485.
- Silva MIG, Gondim APS, Nunes IFS, Sousa FCF 2006. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). *Rev Bras Farmacogn* 16: 455-462.
- Torres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Araújo EC 2005. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn* 15: 373-380.