

ESTUDO DA TOXICIDADE SUBAGUDA DO *Aspidosperma subincanum* MARTIUS

GOLONI, Raquel¹; **DA CUNHA**, Luiz Carlos²; **BOZINIS**, Marize Campos Valadares³; **GARROTE**, Clévia Ferreira³; **TRESVENZOL**, Leonice³; **DE PAULA**, José Realino³; **BARA**, Maria Tereza³; **ALVES**, Nilda⁴; **VIEIRA**, Marcelo de Sousa⁵; **PUCCI**, Liuba Laxor⁶; **AZEREDO**, Flaubertt Santana⁷

Palavras-chave: *Aspidosperma subincanum* – toxicidade subaguda

1. INTRODUÇÃO

Para uma substância produzir um efeito tóxico, primeiro ela deve ser exposta, ser absorvida, distribuída pelo organismo, sofrer metabolização e ter sua ação em algum sítio celular de forma a provocar respostas que interfiram no funcionamento fisiológico de forma nociva, até gerar sinais e sintomas perceptíveis clinicamente ou a nível molecular. Os testes de primeira execução reportam-se ao estudo da toxicidade aguda e subaguda. Através da toxicidade aguda a relação dose-resposta da substância-teste bem como a DL 50 é obtida. Este estudo fornece dados sobre o início, a natureza e a intoxicação associada à morte proveniente de uma exposição à substância a ser estudada num período total de vinte e quatro horas. Já a toxicidade subaguda refere-se aos efeitos nocivos cumulativos decorrentes de uma exposição repetida de preferência oral, em um período limitado de tempo. O guatambu *Aspidosperma subincanum* M., é uma planta da família Apocynaceae muito utilizada em Goiás como tratamento para diabetes de acordo com a crença popular. Bruneton, em 1993, descobriu que algumas espécies do gênero *Aspidosperma* continham como metabólitos secundários, alcalóides portadores de uma ação hipoglicemiante e hipocolesterolemiantes. Verifica-se o uso desta planta de forma contínua sem uma padronização de dose e período, o que traz respaldo a uma pesquisa que verifique o nível potencial de toxicidade desta espécie. Procedeu-se, portanto, uma avaliação da toxicidade pré-clínica do extrato etanólico de *Aspidosperma subincanum* M. num ensaio de toxicidade subaguda em ratos.

2. METODOLOGIA

Obtenção do extrato etanólico (EEA): A 1000 g do pó fino do guatambu adicionou-se um total de 3000 mL de etanol às 4 alíquotas de 250 g do pó. A mistura foi acondicionada em frascos de Erlenmeyer de 1000 mL e submetida a agitação mecânica, por período de 4 h, para maceração, procedimento este repetido três vezes para garantir o esgotamento do extrato. Depois deste período, a mistura foi filtrada com papel de filtro qualitativo, sendo que este filtrado obtido (solução etanólica com os compostos extraídos) foi levado ao rotaevaporador a 40°C para a evaporação do etanol. O extrato fluido obtido foi acondicionado em frascos de vidro até peso constante. A massa total de extrato obtida foi de 100g.

Solubilização do extrato: O EEA foi solubilizado em solução salina a 0,9% e dimetilsulfóxido (DMSO) numa concentração máxima de 5% da solução.

Animais: Utilizou-se para este estudo 40 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* com a massa corpórea de 265±25 g divididos em 5 grupos de 8 animais: Grupo Controle (salina + DMSO); Grupo I (125 mg/kg); Grupo II (250 mg/kg); Grupo III (500 mg/kg) e Grupo Satélite (500 mg/kg). Este último, após suspensão da administração do extrato etanólico, permaneceu sob observação por 30 dias para verificar reversão de possíveis reações adversas/tóxicas.

Administração das doses: O extrato etanólico de *Aspidosperma subincanum* M. foi administrado por trinta dias via perioral aos grupos de animais sempre no período da manhã, à razão de uma dose por grupo. As doses foram reajustadas semanalmente de acordo com a massa corpórea de cada grupo de tratamento.

Avaliação dos exames: Após o término do período de trinta dias, os animais foram anestesiados com quetamina e xilazina para proceder punção cardíaca e, posteriormente feita a eutanásia através de deslocamento cervical para realização do procedimento de necropsia com extração de fígado, baço, rins, intestino, estômago, coração, pulmão e cérebro. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos foram avaliados e a avaliação microscópica dos órgãos está sendo aguardada.

Avaliação estatística: Aplicou-se os testes de análise de variância (ANOVA) e teste de múltipla comparação de Tukey, por meio do programa Graph Pad PRISM 4.03.

3. RESULTADOS

Apresentam-se, a seguir, os dados hematológicos (Tabela 1) e bioquímicos (Tabela 2) obtidos dos animais controle e tratados com doses crescentes do extrato etanólico de *Aspidosperma subincanum* . Os resultados relativos à variação ponderal, consumo de água e ração e produção de fezes e urina e os exames histopatológicos, serão apresentados consolidados, em artigo sob redação.

Tabela 1 –Parâmetros hematológicos dos ratos tratados com doses crescentes do extrato etanólico de *Aspidosperma subincanum* para os grupos I (125 mg/kg), II (250 mg/kg), III (500 mg/kg) e Controle , por período de 30 dias, p.o. (Média±DP; IC 95%).

Grupos	Leucócitos (cél/mm ³)	Eritrócitos (x 10 ⁶ /mm ³)	Hemoglobina (g/dL)	VCM (ft)
Controle	6425 ± 2272,03	7,08 ± 0,37	12,8 ± 0,8	53,9 ± 2,0
Grupo I (125 mg/kg)	8320 ± 1323,63	6,85 ± 0,43	12,7 ± 0,8	54,4 ± 2,7
Grupo II (250 mg/kg)	7283,33 ± 1519,75	7,09 ± 0,28	12,8 ± 0,5	53,8 ± 1,0
Grupo III (500 mg/kg)	8000 ± 1272	6,85 ± 0,76	12,5 ± 0,9	49,9 ± 5,6

Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos dos ratos tratados com doses crescentes do extrato etanólico de *Aspidosperma subincanum* para os grupos I (125 mg/kg), II (250 mg/kg), III (500 mg/kg) e Controle , por período de 30 dias, p.o. (Média±DP; IC 95%).

Grupos	Proteínas Totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Glicose (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicérides (mg/dL)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Controle	6,32±0,53	3,0±0,12	162,87±26,76	60±4,81	47±15,36	51,87±9,14	0,63±0,09	103,75±75,14	160,875±130,65
Grupo I (125mg/kg)	6,38±0,41	3,1±0,11	144±19,96	66,2±7,42	64±3,39	58,6±10,01	0,6±0,00	82,2±7,32	156,6±33,41
Grupo II (250mg/kg)	6,38±0,32	2,93±0,28	144,3±18,11	62,3±14,56	50,16±10,32	56,16±8,90	0,51±0,04*	77,66±19,54	163,3±43,44
Grupo III (500mg/kg)	5,8±0,44	3,01±0,19	173,71±45,53	59,85±6,41	39,28±9,84	61,71±8,44	0,45±0,05*	105±53,51	138±24,66

* Diferença estatisticamente significativa (ANOVA, teste de Tukey).

4. DISCUSSÃO

Até o momento, pôde-se verificar uma tolerância relevante por parte dos animais de experimentação frente ao extrato etanólico de *Aspidosperma subincanum* M. (guatambu), nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg administradas via perioral através de gavagem no período de 30 dias. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada em relação aos testes bioquímicos e hematológicos, salvo possível alteração leve a moderada, aparentemente dose-dependente, dos níveis de creatinina plasmática, o que poderia indicar comprometimento da função renal. Entretanto, o débito urinário parece não ter sido afetado. Os testes histopatológicos, em andamento, poderão revelar possível alteração estrutural dos rins.

5. CONCLUSÃO

A tolerância dos animais de experimentação frente ao extrato etanólico de guatambu condiz com o seu uso populacional, sem o relato de algum efeito tóxico significativo. Entretanto, a avaliação dos resultados dos exames histopatológicos referentes aos órgãos dos animais pertencentes ao grupo satélite (500 mg/kg + 30 dias após suspensão do EEA, é necessária para uma avaliação mais criteriosa. Possível alteração renal, sob doses elevadas de guatambu, por tempo prolongado, deve ser melhor investigada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, A. S., *Manual de Ensaios Toxicológicos In Vivo*, 122p., Editora da UNICAMP, Campinas-SP, 1994.

BRUNETON, JEAN, *Pharmacognosy, Phitochemistry, Medicinal Plants*. New York, Lavoisier Publishing, 1993, 819p.

CARE (Cornell Center for Animal Resources and Education) – Anesthesia for rodents, SOP 101.01, Dec. 6, 2002. Reviewed Feb 2006, <http://www.research.cornell.edu/CARE/>.

Tresvenzol, L. M. F. et al. *Levantamento das plantas medicinais do Estado de Goiás entre 1995 e 1998*. Comunicação pessoal, 2004.

¹ Bolsista do Programa Interno de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq). Faculdade de Farmácia - NEPET- Núcleo de Estudos e Pesquisas Toxicológicas, raquel_goloni@hotmail.com

² Orientador/Faculdade de Farmácia/UFG

³ Professor colaborador/Faculdade de Farmácia/UFG

⁴ Aluna de mestrado Convênio UnB/FESURV

⁵ Médico Veterinário/Bolsista de apoio técnico CNPq/NEPET-UFG

⁶ Farmacêutica/Bolsista de apoio técnico CNPq/NEPET-UFG

⁷ Farmacêutico/Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFG