

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA EXTERNA DA PROLE DE RATAS WISTAR TRATADAS COM EXTRATO SECO DE *Momordica charantia* Linn

Ana Luisa Trautenmuller^{1,3*} (IC), Jonathan de Almeida Soares³ (IC), Joelma Abadia Marciano de Paula² (PQ), Vanessa Cristiane Santana Amaral³ (PQ)

1. Universidade Estadual de Goiás. Câmpus de Ciências Exatas e Tecnológicas. Anápolis – GO. analuisa154@hotmail.com
2. Laboratório de Estudos Botânicos, Químicos e Biológicos de Plantas Medicinais. Universidade Estadual de Goiás. Câmpus de Ciências Exatas e Tecnológicas. Anápolis – GO.
3. Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos - Universidade Estadual de Goiás. Câmpus de Ciências Exatas e Tecnológicas. Anápolis – GO.

Resumo: Estudos sobre a avaliação da segurança do uso de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes e muitas espécies são utilizadas com base somente no seu uso popular. Alguns compostos químicos contidos nos extratos de plantas podem comprometer a gestação, promovendo danos ao organismo materno e/ou ao embrião/feto. Sendo assim, estudos multidisciplinares têm se tornado cada vez mais importantes para a definição dos potenciais terapêuticos e tóxicos de extratos vegetais. Nesse contexto, a *Momordica charantia* L. é uma planta utilizada na medicina tradicional popular devido às suas diversas propriedades terapêuticas. Entretanto, existem poucos estudos que avaliam o uso das suas folhas durante a gestação. Sendo assim, este estudo avaliou o desenvolvimento morfológico da prole de ratas Wistar tratadas com o extrato seco das folhas de *M. charantia* nas doses de 500, 1000 ou 2000 mg/kg durante o período da organogênese. Os resultados mostraram uma discreta redução na medida látero-lateral do tórax dos fetos dos grupos 1000 e 2000 mg/kg em relação aos grupos 500 mg/kg e controle. Entretanto, não houve alteração nas demais medidas morfométricas avaliadas. Portanto, o extrato seco das folhas de *M. charantia* nas doses testadas não provocou efeito embriofetotóxico considerável em ratos Wistar.

Palavras-chave: Medidas morfométricas. Melão de são Caetano. Plantas medicinais. Organogênese.

Introdução

O uso de plantas medicinais visando a cura, o tratamento e a prevenção de doenças é umas das práticas mais antigas da humanidade (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). A grande demanda por alternativas naturais aumentou o consumo dessas plantas sob a forma de chás e de outras formas farmacêuticas (HOLLENBACH, 2008). Além disso, muitas plantas medicinais são utilizadas indiscriminadamente pela população, principalmente através da propagação de

propriedades terapêuticas entre os usuários (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Neste contexto, a validação científica do uso popular de plantas medicinais é fundamental para garantir a segurança e a eficácia de sua utilização (BRITTO et al., 2006).

Tendo em vista a vulnerabilidade do processo reprodutivo e a ampla utilização de plantas medicinais pela população, pesquisas na área de toxicologia reprodutiva despertam grande interesse científico, já que compostos químicos contidos nos extratos de plantas podem comprometer a manutenção da gestação, promovendo danos ao organismo materno e/ou ao embrião/feto (ALVARENGA, 2006; LEMÔNICA, 2001).

Dentro desta perspectiva, a *Momordica charantia* L. é uma importante planta medicinal utilizada na medicina tradicional popular. Pertencente à família Cucurbitaceae, esta planta do tipo trepadeira é popularmente conhecida no Brasil como melão de são Caetano (AGRAWAL; BEOHAR, 2010). Esta espécie vegetal está descrita na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), uma lista com 71 espécies que apresentam potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e gerar produtos de interesse ao SUS e ao Ministério da Saúde (BRASIL, 2009). Entretanto, poucos estudos avaliaram o uso da *M. charantia* durante a gestação (CHAN et al., 1985; CHAN; TAM; YEUNG, 1984; TAM; CHAN; YEUNG, 1984; UCHE-NWACHI; McEWEN, 2010). Diante disso, este estudo avaliou os efeitos do extrato seco das folhas desta planta sobre o desenvolvimento morfológico da prole de ratas Wistar tratadas durante a organogênese.

Material e Métodos

Coleta do material botânico

Foram realizadas seis coletas da espécie vegetal (*Momordica charantia* L.) nas cidades de Anápolis-GO, Petrolina de Goiás-GO e Trindade-GO. Uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Estadual de Goiás (HUEG) sob o registro nº 10.108. As folhas da *M. charantia* foram limpas e dessecadas em estufa com ventilação forçada de ar à 40 °C por 24 horas. Posteriormente, foram trituradas em moinho de facas para obtenção da droga vegetal.

Preparação do extrato seco

O pó seco e pulverizado das folhas da *M. charantia* foi macerado em etanol 80% por 24 horas à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Em seguida, este material foi submetido ao processo de percolação com etanol 80% por 10 dias. O extrato percolado foi concentrado em rotaevaporador, à 40°C, até remoção completa do solvente. O extrato concentrado foi então liofilizado e o extrato seco obtido foi acondicionado em recipientes de vidro ao abrigo da luz e umidade e conservado no freezer à temperatura de -10°C.

Aspectos éticos

Os experimentos deste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Goiás, em 21 de setembro de 2015, sob o nº 005/2015.

Animais

Ratos Wistar, fêmeas e machos foram mantidos no Biotério do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos da Universidade Estadual de Goiás (UEG). Os animais foram alojados em caixas de polipropileno e mantidos em salas com condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade (ciclo claro escuro de 12 h; luzes acesas das 7:00 às 19 h). Além disso, os animais receberam água e ração *ad libitum*.

Protocolo experimental

Acasalamento

Fêmeas no proestro foram colocadas individualmente em caixas de polipropileno na presença de um macho para o acasalamento. No dia seguinte, para a confirmação da cópula foi realizado o esfregaço vaginal para a detecção de espermatozoides, sendo este o dia gestacional zero (DG 0).

Grupos experimentais e tratamento

As ratas prenhes foram distribuídas em quatro grupos. O grupo controle recebeu apenas o veículo utilizado na dissolução do extrato (gel de carboximetilcelulose 0,5% e propilenoglicol 10%) e os três grupos experimentais foram tratados com doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg do extrato seco de *Momordica*

charantia (EMc). O tratamento foi realizado por via oral (gavage) do 6° ao 15° dia gestacional, período correspondente à organogênese.

As doses do extrato foram definidas a partir dos resultados do teste de toxicidade oral aguda realizado pelo nosso grupo de pesquisa, conforme o Protocolo nº 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2001) (dados não publicados).

Cesariana e avaliação morfológica externa dos fetos

No 21° dia gestacional as fêmeas foram anestesiadas com uretana 25% (0,5 mL/100 g de massa corporal) para a realização da cesariana. Após a abertura da cavidade abdominal, os fetos foram removidos do corno uterino e analisados quanto à presença de anormalidades externas. Em seguida, os fetos foram desidratados em etanol 96% por 8 dias. Após a desidratação, as seguintes medidas externas foram determinadas com o auxílio de um paquímetro digital (Zaas Precision®): látero-lateral do crânio, ântero-posterior do crânio, látero-lateral do tórax, ântero-posterior do tórax, crânio-caudal e cauda.

Análise estatística

Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média e foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste de comparações múltiplas de Newman-Keuls. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

RESULTADOS

Conforme mostrado na Tabela 1, não foram encontradas anormalidades externas nos fetos dos grupos controle e tratamento com as três doses do EMc.

Tabela 1 - Número de fetos e ninhadas de ratas Wistar tratadas com o veículo (controle) ou com o extrato seco das folhas de *Momordica charantia* L. nas doses de 500, 1000 ou 2000 mg/kg e que foram avaliados quanto a presença de malformações externas.

Parâmetros	Controle	EMc (mg/kg)		
		500	1000	2000
Fetos analisados (n)	111	117	104	118
Ninhadas analisadas (n)	10	10	10	10
Fetos com malformações externas	0	0	0	0

Nota: EMc - Extrato seco das folhas de *Momordica charantia* L.

A Tabela 2 mostra os resultados das medidas morfométricas fetais. A ANOVA unifatorial apenas revelou diferença significativa entre os grupos para a medida látero-lateral do tórax ($F_{(3,36)} = 7,22$; $p = 0,00065$). O teste post-hoc de Newman Keuls mostrou que os fetos dos grupos 1000 e 2000 mg/kg apresentaram uma discreta redução nesta medida em relação aos grupos controle e 500 mg/kg. Não foi observada diferença significativa entre os grupos controle e tratamento para as medidas látero-lateral do crânio ($F_{(3,36)} = 2,66$; $p > 0,05$), ântero-posterior do crânio ($F_{(3,36)} = 0,99$; $p > 0,05$), ântero-posterior do tórax ($F_{(3,36)} = 2,05$; $p > 0,05$), crânio caudal ($F_{(3,36)} = 0,16$; $p > 0,05$) e cauda ($F_{(3,36)} = 0,41$; $p > 0,05$).

Tabela 2 – Medidas morfométricas (mm) dos fetos de ratas Wistar tratadas com o veículo (controle) ou com o extrato seco das folhas de *Momordica charantia* L. nas doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg durante a organogênese.

Medidas morfométricas fetais (mm)	Controle	EMc (mg/kg)		
		500	1000	2000
Látero-lateral do crânio	10,57 ± 0,19	10,53 ± 0,24	9,97 ± 0,23	9,96 ± 0,16
Ântero-posterior do crânio	15,16 ± 0,28	14,97 ± 0,31	14,79 ± 0,24	15,08 ± 0,18
Látero-lateral do tórax	11,35 ± 0,18	11,52 ± 0,26	10,32 ± 0,16 ^{ab}	10,65 ± 0,26 ^{ab}
Ântero-posterior do tórax	11,97 ± 0,26	12,00 ± 0,25	11,33 ± 0,19	11,45 ± 0,26
Crânio caudal	44,36 ± 0,41	44,53 ± 0,44	44,33 ± 0,50	44,06 ± 0,58
Cauda	12,57 ± 0,31	12,11 ± 0,37	12,28 ± 0,28	12,43 ± 0,27

Nota: EMc – Extrato seco de *Momordica charantia* L.

Os valores estão expressos em média ± erro padrão da média. ANOVA unifatorial seguida do teste de comparações múltiplas de Newman-Keuls.

a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle; **b** $p < 0,05$ em relação ao grupo 500 mg/kg.

DISCUSSÃO

Neste estudo não foram observadas malformações externas nos 450 fetos analisados. Quanto aos parâmetros morfométricos avaliados, houve uma discreta redução na medida látero-lateral do tórax nos fetos dos grupos 1000 e 2000 mg/kg quando comparados aos grupos controle e 500 mg/kg. Como não houve alteração significativa nas demais medidas morfométricas fetais, este resultado analisado isoladamente não pode ser considerado um efeito embriofetotóxico decorrente da administração do extrato.

O desenvolvimento embrionário é muito sensível a diversos tipos de substâncias químicas, especialmente durante o período da organogênese (ORNOY, 2007). Ao longo desta fase existem momentos de máxima suscetibilidade para cada estrutura em formação (MOORE; PERSAUD, 2008). Os principais danos reprodutivos observados na espécie humana são classificados em: perda do conceito, malformações, restrição de crescimento intrauterino e deficiências funcionais (SCHÜLER-FACCINI et al., 2011).

O crescimento fetal na fase inicial é determinado, principalmente, geneticamente. Nas fases posteriores é influenciado por fatores hormonais, imunológicos, vasculares, nutricionais e ambientais. Existem várias causas responsáveis pela restrição do crescimento intrauterino. Entre elas destacam-se a deficiência da passagem de nutrientes e oxigênio através da placenta para o feto, massa corporal reduzida no período pré-gestacional ou ganho insuficiente de massa corporal durante a gestação e, o uso de substâncias com efeitos teratogênicos (NETO; CÓRDOBA; PERAÇOLI, 2011). Neste sentido, a exposição materna a agentes externos, como substâncias químicas, pode resultar em efeitos importantes sobre o organismo embriofetal (DAMASCENO et al., 2008).

Estudos que avaliam a toxicidade reprodutiva da *M. charantia* são escassos e foram realizados apenas com as sementes (CHAN et al., 1985; CHAN; TAM; YEUNG, 1984; TAM; CHAN; YEUNG, 1984) e os frutos (UCHE-NWACHI; McEWEN, 2010). Sendo assim, são necessários mais estudos para avaliar o perfil toxicológico das folhas desta planta medicinal quando utilizadas durante a gestação. Nesse contexto, o presente estudo demonstrou que o tratamento com o EMc durante o período da organogênese não produziu embriofetotóxico considerável. Para melhor

caracterização do perfil toxicológico desta planta e determinação de sua segurança para o uso durante a gestação, estudos adicionais como o de toxicidade reprodutiva devem ser realizados.

Considerações Finais

A exposição ao extrato seco das folhas de *Momordica charantia* L. nas doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg durante a organogênese não provocou alterações morfológicas externas na prole de ratas Wistar. Além disso, a avaliação dos parâmetros morfométricos fetais revelou ausência de embriofetotoxicidade do EMc.

Agradecimentos

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UEG (BIC/UEG).

Referências

AGRAWAL, R.C.; BEOHAR, T. Chemopreventive and Anticarcinogenic Effects of *Momordica charantia* Extract. **Asian Pacific J Cancer Prev.**, v. 11, p. 371-75, 2010.

ALVARENGA, C.M.D. **Avaliação dos mecanismos de ação interceptiva e/ou embriotóxica do extrato aquoso de *Plectranthus barbatus* Andr. (Boldo-brasileiro) administrado a ratas prenhes no período de pré-implantação.** 2006. 97 f. Tese (Doutorado em Patologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu. Botucatu, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2009. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS).** Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/07/renisus.pdf>> Acesso em: 27 de junho de 2016.

BRITTO, V.L.M.Q. et al. Plantas medicinais e fitoterápicos no contexto da academia, governo e organizações da sociedade civil: exemplo de iniciativas populares no município de Uberlândia-MG. **Rev. Ed. Popular**, v. 6, p.93-101, 2007.

CHAN, W.Y. et al. The inhibitory effects of β -Momorcharin on endometrial cells in the mouse. **Contraception**, v. 31, n.1, p. 83-90, 1985.

CHAN, W.Y.; TAM, P.P.L.; YEUNG, H.W. The termination of early pregnancy in the mouse by β -momorcharin. **Contraception**, v. 29, n. 1, p. 91-100, 1984.

DAMASCENO, D.C. et al. **Anomalias congênitas: estudos experimentais**. Belo Horizonte: Coopmed, 2008. 102p.

HOLLENBACH, C.B. **Estudo da toxicidade reprodutiva de duas formulações fitoterápicas contendo soja [Glycine Max (L.) Merr] em Ratas Wistar**. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

LEMÔNICA, I.P. Teratogênese experimental e sua aplicação em humanos. In: SANSEVERINO, M. T.V.; SPRITZER, D.T.; SCHÜLLER-FACCINI, L. **Manual de Teratogênese**. 1 ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade/ UFRGS, 2001. p. 19-39.

MOORE, K.L; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia Básica**. 8. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 536 p.

NETO, A.R.M; CÓRDOBA, J.C.M.; PERAÇOLI, J.C. Etiologia da restrição de crescimento intrauterino (RCIU). **Com. Ciências Saúde**, v. 22, Sup 1, p. S21-S30, 2011.

OECD's Guideline for the Testing of Chemicals – nº 423: **Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method**, 2001.

ORNOY, A. Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. **Reproductive Toxicology**, v. 24, p.31–41, 2007.

SCHÜLLER-FACCHINI, L. et al. Teratogênese em Humanos. In: SCHÜLLER-FACCHINI, L. et al. **Manual de Teratogênese em Humanos**. 1 ed. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, 2011, p. 17-22.

TAM, P.P.L.; CHAN, W.Y.; YEUNG, H.W.; Viability of α -momorcharin-treated mouse blastocysts in the pseudopregnant uterus. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 71, p. 567-572, 1984.

UCHE-NWACHI, E.O.; McEWEN, C. Teratogenic effects of the water extract of the bitter melon (*Momordica charantia*) on the *Sprague Dawley* rats. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines**, v.7, n. 1, p. 24-33, 2010.

VEIGA JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.G.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-28, 2005.