



## ANÁLISE HISTOLÓGICA DO ÚTERO E VAGINA DE RATAS TRATADAS COM EXTRATO VEGETAL DE *LIMONIUM BRASILIENSE*

<sup>2</sup>Henrique Gonçalves Fernandes (PIBIC/CNPq/FA/Uem), <sup>2</sup>Tânia Mara Antonelli Ushirobira (Colaboradora), <sup>2</sup>João Carlos Palazzo de Mello (Colaborador), <sup>1</sup>Eneri Vieira de Souza Leite Mello (Orientador), e-mail: enerileite@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / <sup>1</sup>Centro de Ciências Biológicas e <sup>2</sup>Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR

**Área:** Área: Ciências Biológicas / Morfologia / Histologia

**Palavras-chave:** *Limonium brasiliense*, sistema reprodutor feminino, histologia

### Resumo:

Estudos mostraram que as propriedades farmacológicas do extrato bruto de *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze apresentam uma possível atividade hormonal, justificando, portanto, seu uso popular no tratamento de distúrbios menstruais, sendo largamente difundido na região sul do Brasil. Este trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de análise histológica do útero e vagina, a atividade do extrato vegetal de *Limonium brasiliense* (EB) sobre o ciclo estral em ratas imaturas. O útero e vagina foram submetidos à técnica histológica de rotina, corados por HE, para subsequente análise sob microscopia de luz. Para análise do útero foram considerados: espessura do epitélio, intensidade de infiltrado leucocitário, intensidade de edema e grau de desenvolvimento das glândulas uterinas. Na análise dos cortes de vagina foram observados espessura do epitélio, presença/ausência de estrato granuloso e presença/ausência de estrato córneo. Entre as ratas que receberam EB foi observado, de maneira geral, o predomínio de fase estro. Das 28 ratas analisadas 16 apresentaram características de estro e 12 de diestro, sendo que nos tratamentos com doses mais baixas (12,5 e 25,0 mg/kg) esta característica foi mais marcante. Estes resultados demonstram que este extrato bruto apresenta ação sobre o sistema reprodutor de ratas imaturas podendo ser relacionado com seu uso popular.





## Introdução

A planta medicinal, utilizada na preparação de medicamentos, é um produto estranho ao organismo humano, nele introduzido com finalidades terapêuticas. Entre as drogas vegetais da biodiversidade brasileira, as raízes de *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze são empregadas popularmente como anti-séptico nas infecções geniturinárias, adstringente, depurativo e, principalmente, no tratamento de cólicas menstruais e como regulador dos períodos menstruais (CARDOSO, 1990). Esta espécie apresenta grande potencial e perspectiva para um possível medicamento fitoterápico. Destaca-se que esta droga, já compôs o mercado farmacêutico industrial em, pelo menos, oito diferentes formulações, todos com indicação ao tratamento de distúrbios menstruais e TPM, porém, nenhum desses produtos permanece legalmente no mercado brasileiro por falta de estudos científicos.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de análise histológica do útero e vagina, a atividade do extrato vegetal de *Limonium brasiliense* sobre o ciclo estral em ratas imaturas.

## Materiais e métodos

Neste estudo foram utilizados úteros e vaginas de ratas tratadas com extrato bruto de rizomas de *Limonium brasiliense* (EB) fornecido pelo Laboratório de Biologia Farmacêutica – PALAFITO - DFA – UEM.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no uso de Animais em Experimentação – CEAE – UEM (Protocolo 064/2011).

Ratas imaturas (n=42) foram divididas em 7 grupos (n=6). Os grupos controle negativo (CN) e controle positivo (CP) receberam água e valerato de  $17\beta$ -estradiol, respectivamente. Os grupos tratados receberam EB nas doses de 12.5, 25, 50, 100, ou 200 mg/kg.

O tratamento dos animais, ensaio uterotrópico e dosagem hormonal foram efetivados em trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa (ANTONELLI-USHIROBIRA, 2015) cabendo a este projeto a elaboração e análise dos cortes histológicos dos órgãos.

Os úteros e as vaginas foram submetidos à técnica histológica de rotina, corados por HE. Os cortes foram observados sob microscopia de luz (objetivas de 4X e 10X). Para análise dos cortes de útero, foram considerados 4 aspectos: espessura do epitélio, intensidade de infiltrado leucocitário, intensidade de edema (ou ausência deste) e grau de





desenvolvimento das glândulas uterinas. Na análise dos cortes de vagina 3 aspectos foram observados: espessura do epitélio, presença/ausência de estrato granuloso e presença/ausência de estrato córneo.

Para realização do estadiamento do ciclo estral, os aspectos supracitados foram analisados para cada animal, e, de acordo com a prevalência de características, estes foram inseridos no grupo estro ou no grupo diestro (WESTWOOD, 2008).

## Resultados e Discussão

Devido à curta duração do ciclo estral das ratas e à efemeridade de algumas de suas fases, muitas vezes foi dificultoso estabelecer com exatidão qual fase do ciclo o animal se encontrava no momento da eutanásia. Por isso, foram considerados apenas os grupos estro e diestro.

As ratas CN que se encontravam na fase diestro (50%) apresentaram o epitélio uterino visualmente baixo, com presença glândulas pouco desenvolvidas, pouco infiltrado leucocitário e edema moderado ou ausente. No corte transversal da vagina, o epitélio era baixo e não foi observada queratinização. As ratas que se encontravam na fase estro (50%) apresentaram o epitélio endometrial alto, glândulas bem desenvolvidas; intenso infiltrado leucocitário e edema intenso. O epitélio vaginal apresentou-se queratinizado, com células vacuolizadas. Essas características observadas estão em conformidade com o ciclo estral das ratas e foram semelhantes em todos os grupos avaliados.

Das 6 ratas CP analisadas, todas apresentaram-se na fase estro, o que já era esperado, uma vez que receberam estrogênio durante todo o período de tratamento.

Entre as ratas que receberam EB foi observado, de maneira geral, o predomínio de fase estro. Das 28 ratas analisadas 16 apresentaram características de estro e 12 de diestro, sendo que nos tratamentos com doses mais baixas (12,5 e 25,0 mg/kg) esta característica foi mais marcante.

Estes dados são condizentes com os resultados obtidos na avaliação uterotrópica, que demonstraram aumento significativo de peso relativo do útero nos animais que receberam EB de *L. brasiliense* em relação ao grupo CN, indicando uma predominância de fase estro (ANTONELLI-USHIROBIRA, 2015). O ensaio uterotrópico é um dos testes mais utilizados para avaliar a atividade estrogênica de uma substância teste, e consiste na habilidade dessa substância em promover o crescimento uterino





## Conclusões

Os resultados da análise histológica do útero e vagina de ratas tratadas com extrato vegetal de *Limonium brasiliense* mostrou que este extrato bruto apresenta ação sobre o sistema reprodutor de ratas imaturas podendo ser relacionado com seu uso popular.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa PIBIC, à Eneri Vieira de Souza Leite Mello e Tânia Mara Antonelli Ushirobira, pelo total apoio e suporte durante a realização deste projeto.

## Referências

**ANTONELLI-USHIROBIRA, T. M. Avaliação etnofarmacológica e toxicológica pré-Clínica *in vivo* do extrato bruto dos rizomas de *Limonium Brasiliense*. 2015. 114f. Tese (Doutorado)-Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.**

**WESTWOOD, F. R. The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide To Staging. *Toxicologic Pathology* 36.3 (2008): p.375-384. Web.**

**CARDOSO, M.L.C. *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze, *Plumbaginaceae* (Baicuru): Desenvolvimento galênico de extratos. 1990. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 101 f., 1990.**

