

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE QUEBRA-PEDRA (*Phyllanthus niruri* L.) NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO DE RATAS E NO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE SUA PROLE

MACIEL DA COSTA ALVES

CUITÉ - PB

2018

MACIEL DA COSTA ALVES

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE QUEBRA-PEDRA (*Phyllanthus niruri* L.) NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO DE RATAS E NO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE SUA PROLE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Patrícia Fernandes dos Santos.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo.

CUITÉ - PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

A474e Alves, Maciel da Costa.

Efeitos do extrato aquoso de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L.) na gestação e lactação de ratas e no desenvolvimento somático de sua prole. / Maciel da Costa Alves. – Cuité: CES, 2018.

50 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2018.

Orientadora: Dra. Claudia patricia Fernandes dos Santos.

Coorientadora: Dra. Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo.

1. *Phyllanthus niruri*, Toxicidade materna, Desenvolvimento pós-natal. I. Título.

MACIEL DA COSTA ALVES

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE QUEBRA-PEDRA (*Phyllanthus niruri* L.) NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO DE RATAS E NO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE SUA PROLE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Farmácia.

APROVADO EM: 26/02/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Cláudia Patrícia Fernandes dos Santos
Universidade Federal de Campina Grande
Orientadora

Prof.^a Dr.^a Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo
Universidade Federal de Campina Grande
Co-orientadora

Msc. Diego Elias Pereira
Universidade Federal da Paraíba
Avaliador

CUITÉ - PB

2018

Dedico este trabalho aos meus pais Júlia Souto e Manoel Alves, pelo amor incondicional e por todo apoio e incentivo durante a minha formação acadêmica. Pois sem eles este trabalho e muitos dos meus sonhos não seriam realizados.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao bom **Deus**, que colocou pessoas maravilhosas ao meu lado durante o desenvolvimento desta pesquisa, me proporcionou energia e saúde para concluir todo esse trabalho e por me lembrar que sempre sou mais forte do que penso.

A minha mãe **Júlia Souto da Costa Alves** e ao meu pai **Manoel Alves de Lima**, por serem minha base, minha fortaleza e, principalmente, por todo incentivo e esforço feito para que os estudos estivessem em primeiro lugar em minha vida.

Aos meus irmãos **Marcelo Costa** e **Emanoel Costa**, pela amizade, apoio e estímulo para enfrentar novos desafios.

A minha namorada **Ana Silva**, por estar ao meu lado em todos os momentos, sempre com muito amor e carinho e por ser uma ótima companhia, principalmente nos meus piores dias.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a **Cláudia Patrícia Fernandes dos Santos**, pela disponibilidade, oportunidades, orientações concedidas, paciência, pelos ensinamentos e principalmente pela confiança depositada em minha pessoa desde o tempo em que era aluno do curso de Química e, posteriormente, durante toda minha graduação em Farmácia, totalizando quase sete anos. rs! Agradeço por acreditar no meu potencial.

Aos Mestres **Diego Elias Pereira** e **Rita de Cássia Araújo Bidô**, pessoas especiais, a quem sou muito grato por terem me recebido e aceito de braços abertos, pelo companheirismo e amizade construída, auxílio no decorrer de todo o período em que estive no laboratório, colaboração no desenvolvimento deste trabalho e, não menos importante, pelos momentos descontraídos dentro do laboratório, fazendo com que as horas passassem mais rápidas, rs!

À minha co-orientadora Prof.^a Dr.^a **Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo** pelas sugestões e contribuições sugeridas neste trabalho, orientações e, principalmente, por corajosamente ter me aceito como um de seus orientandos, sem nunca ter me conhecido.

Ao professor Dr. **Carlos Alberto Garcia Santos**, por sua contribuição na identificação botânica das espécies vegetais com as quais trabalhei. Obrigado!

Às colegas de laboratório, **Elisiane Beatriz**, **Joany Medeiros**, **Renally Moura** e a Msc. **Ana Carolina**, pela amizade e ajuda concedida durante o desenvolvimento deste trabalho.

A toda equipe que compõe os Laboratórios de Bromatologia e de Nutrição Experimental – LANEX, professores, alunos, profissionais e ao “faz tudo” **Jaciél**, rs!

A maior perda na vida não é a morte, mas sim o que morre dentro de você enquanto ainda está vivo. Nunca se renda!

Tupac Amaru Shakur

RESUMO

Phyllanthus niruri, espécie herbácea pertencente à família Phyllanthaceae, conhecida popularmente por quebra-pedra, possui vasto emprego medicinal, principalmente para o tratamento da litíase renal, sendo contraindicada durante a gestação e lactação. Embora presente em alguns bancos de dados oficiais, sendo considerada uma planta com potencial abortivo, não são encontrados na literatura pesquisada dados científicos que avaliem e confirmem tal potencial, bem como seus efeitos na saúde da prole. Nesse contexto, este trabalho buscou investigar os efeitos do extrato aquoso de *P. niruri* na gestação e lactação de ratas e no desenvolvimento somático e físico da prole. Foram utilizadas fêmeas primíparas, para obtenção da prole. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo controle (GC) (n=6) - tratado com água destilada e o Grupo experimental (GEA-PN) (n=5) - tratado com 150 mg/Kg do extrato aquoso bruto de *P. niruri*. O peso das progenitoras e os sinais clínicos de toxicidade materna foram avaliados diariamente durante todo o experimento. Para a avaliação do desenvolvimento dos neonatos foram analisados os indicadores de maturação somática: Abertura do Pavilhão Auricular, Abertura do Conduto Auditivo, Abertura dos Olhos, Erupção dos Dentes Incisivos Superiores e Inferiores e Aparecimento dos Pelos Epidérmicos. Os parâmetros de crescimento físico mensurados foram: peso corporal, comprimento da cauda e comprimento do eixo ântero-posterior (naso-anal). O tratamento com EAPN provocou sinais clínicos de toxicidade materna sistêmica, onde os animais apresentaram frêmito vocal, tremores, agressividade, hemorragia nasal e hemorragia vaginal, inclusive com registro de um óbito no 20º dia de tratamento. Contudo, o ganho de peso corporal das progenitoras não foi alterado. Quanto à avaliação da maturação somática dos neonatos, observou-se antecipação da abertura do conduto auditivo, abertura dos olhos e aparecimento de pelos epidérmicos nos animais do grupo experimental quando comparados aos animais do GC. Em relação ao desenvolvimento físico, os animais do grupo experimental apresentaram um maior comprimento da cauda no 1º e 21º dia de vida, quando comparados aos animais do grupo controle. No que diz respeito ao comprimento naso-anal, observou-se diferença estatística apenas no 1º dia de vida, quando comparamos os animais do grupo GEA-PN aos animais do GC. O peso corporal do GEA-PN foi maior em relação ao GC, no 7º, 14º e 21º dia de vida ($p < 0,05$). A partir destes resultados, pode-se inferir que *P. niruri* ocasionou toxicidade materna durante a gestação e lactação, porém, a administração do extrato não foi capaz de ocasionar danos à saúde da prole, pelo contrário, promoveu a aceleração dos parâmetros de maturação física e somática.

Palavras-chaves: *Phyllanthus niruri*, toxicidade materna, desenvolvimento pós-natal.

ABSTRACT

Phyllanthus niruri, a herbaceous species belonging to the family Phyllanthaceae, popularly known as quebra-pedra, has a wide medicinal use mainly for the treatment of renal lithiasis and is contraindicated during gestation and lactation. Although present in some official databases, being considered a plant with abortive potential, we do not find in the researched literature scientific data that evaluate and confirm this potential, as well as its effects on the health of the offspring. In this context, this work investigated the effects of the aqueous extract of *P. niruri* on gestation and lactation of rats and on the somatic and physical development of offspring. Primiparous females were used to obtain offspring. The animals were divided into two groups: Control group (CG) (n=6) treated with distilled water and the experimental group (GEA-PN) (n=5) treated with 150 mg/kg of the crude aqueous extract of *P. niruri*. The weight of the progenitors and clinical signs of maternal toxicity were assessed daily throughout the experiment. For the evaluation of the development of neonates were analyzed the indicators of somatic maturation: Pinna Opening, Opening of the Auditory Canal, Opening of the Eyes, Eruption of Upper and Lower Incisors Teeth and Appearance of Epidermal Pelage. The parameters of the physical growth measured were: body weight, tail length and length of the anteroposterior axis. Treatment with EAPN caused clinical signs of systemic maternal toxicity, in which the animals presented vocal thrill, tremors, aggression, nose bleeding and vaginal bleeding, including a death on the 20th day of treatment. However, the body weight gain of the progenitors was not altered. As to the evaluation of the somatic maturation of the neonates, it was observed an anticipation of opening of the auditory canal, opening of the eyes and appearance of epidermal pelage in the animals of the experimental group when compared to the CG animals. In relation to the physical development, the animals of the experimental group had a longer tail length at the 1st and 21st day of life, when compared to the animals of the control group. Regarding the naso-anal length, a statistical difference was observed only in the 1st day of life when we compared the animals of the GEA-PN group to the CG animals. The GEA-PN body weight was higher in relation to CG, at the 7th, 14th and 21st day of life ($p < 0.05$). From these results, it can be inferred that *P. niruri* caused maternal toxicity during gestation and lactation, but the administration of the extract was not able to cause harm to the health of the offspring, on the contrary, it promoted the acceleration of the parameters of physical maturation and somatic.

Keywords: *Phyllanthus niruri*, maternal toxicity, postnatal development.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspectos macroscópicos em <i>Phyllanthus niruri</i> L. - A. hábito da planta; B. flor masculina com três estames; C. flor feminina com ovário; D. fruto, tépalas persistentes; E. folhas de base assimétrica; F. semente.....	18
Figura 2. Visualização de espermatozoides no esfregaço vaginal a fresco em microscopia óptica: (A) aumento de 100X; (B) aumento de 400X.....	23
Figura 3. Fotografias dos parâmetros de maturação somática observados: (A) Abertura do pavilhão auricular; (B) Abertura do conduto auditivo; (C) Erupção dos incisivos; (D) Abertura dos olhos; (E) Aparecimento de pelos epidérmicos.	27
Figura 4. Avaliação do comprimento da cauda. (A) localização da base da cauda; (B) Medida da cauda do ponto do ânus até o final da cauda esticada.	28
Figura 5. Avaliação do eixo ântero-posterior do corpo (comprimento naso-anal) considerando os pontos da região do ânus e o focinho do animal.....	28
Figura 6. Aferição do peso da prole de ratas tratadas com EAPN durante a gestação e lactação.....	29
Figura 7. Efeito do tratamento por via oral com EAPN no período gestacional. Sinal clínico de toxicidade sistêmica (hemorragia vaginal) exibida durante a fase fetal.....	31
Figura 8. Ganho de peso corporal de ratas Wistar tratadas com EAPN, durante os 21 dias de gestação. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$).	32
Figura 9. Peso corpóreo da prole de ratas Wistar tratadas com EAPN, durante os 21 dias de gestação. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$).	34
Figura 10. Comprimento da cauda da progênie de ratas Wistar tratadas com EAPN, durante os 21 dias de gestação e lactação. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$)......	34
Figura 11. Comprimento naso-anal de neonatos no período de lactação do 1° ao 21° dia de vida. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$)......	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Avaliações clínicas para observação da toxicidade aguda nas progenitoras. Adaptado de Brito (1994).	24
Quadro 2. Indicadores de maturação somática. Adaptado de Vasconcelos et al. (2012) e Pereira (2014).	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sinais gerais de toxicidade sistêmica em ratas Wistar tratadas por via oral durante o período de gestação com EAPN.	30
Tabela 2. Sinais gerais de toxicidade sistêmica em ratas Wistar tratadas por via oral durante o período de lactação com EAPN.	31
Tabela 3. Indicadores de maturação somática da progênie de ratas tratadas com EAPN durante a gestação e a lactação.	33

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CES	-	Centro de Educação e Saúde
DP	-	Desvio Padrão
EAPN	-	Extrato aquoso de <i>Phyllanthus niruri</i>
GC	-	Grupo Controle
GEA-PN	-	Grupo Extrato Aquoso de <i>Phyllanthus niruri</i>
LANEX	-	Laboratório de Nutrição Experimental
<i>P. niruri</i>	-	<i>Phyllanthus niruri</i> L.
RENISUS	-	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
UFMG	-	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	-	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	-	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.2 OBJETIVO GERAL	16
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3.1 <i>Phyllanthus niruri</i> L.....	17
3.1.1 Fitoquímica.....	18
3.1.2 Aspectos etnofarmacológicos	19
3.2 DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL.....	20
4. METODOLOGIA	22
4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	22
4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO	22
4.3 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	22
4.3.1 Acasalamento e diagnóstico da prenhez.....	23
4.4 DETERMINAÇÃO DA DOSAGEM E GRUPOS EXPERIMENTAIS	23
4.5 SINAIS GERAIS DE TOXICIDADE NAS MÃES	24
4.5.1 Avaliação do peso corpóreo das progenitoras	25
4.6 DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DOS FILHOTES	25
4.7 CARACTERÍSTICAS DE MATURAÇÃO FÍSICA DOS FILHOTES	28
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
5. RESULTADOS.....	30
5.1 TOXICIDADE SISTÊMICA NAS PROGENITORAS	30
5.1.1 Sinais clínicos de toxicidade.....	30
5.1.2 Ganho de peso corporal das progenitoras.....	32
5.2 MATURAÇÃO SOMÁTICA DOS FILHOTES	32
5.3 DESENVOLVIMENTO FÍSICO DOS FILHOTES	33
5.3.1 Peso corporal da progênie.....	33
5.3.2 Comprimento da cauda.....	34
5.3.3 Comprimento naso-anal.....	35
6. DISCUSSÃO	36

7. CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico é uma prática empregada na medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades, desde as primeiras civilizações, se tornando, atualmente, uma tendência generalizada na medicina popular brasileira, contribuindo significativamente para o consumo de plantas medicinais e para o desenvolvimento fitoterápico (BEZERRA et al., 2012). Fato que pode ser justificado pelo fácil acesso, baixo custo e por serem consideradas inofensivas por boa parte da população (AZEVEDO et al., 2004).

Apesar da crescente importância, nos últimos anos, da fitoterapia, relativamente poucos estudos foram realizados a fim de comprovar a eficácia e segurança, tanto de fitoterápicos como de plantas medicinais usadas com diversas finalidades terapêuticas, sendo muitas dessas plantas utilizadas com base somente no seu uso popular (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Diversos estudos mostram que as plantas medicinais podem provocar reações adversas e que grande parte delas é utilizada por automedicação, não possuindo perfil tóxico bem conhecido, ao passo que a utilização inadequada de um produto, mesmo de baixa toxicidade, pode induzir a problemas graves, desde que existam fatores de risco, como características relacionadas ao paciente, contraindicações, entre tantos outros (SILVEIRA et al., 2008). Reações adversas estas, que podem ser desencadeadas ainda pela presença de seus próprios constituintes bioativos, identificação incorreta de espécies de plantas e uso diferente da forma tradicional (BALBINO; DIAS, 2009).

Durante a gestação, muitas plantas medicinais são contraindicadas e algumas são conhecidas por causarem aborto ou suspeita de qualquer outro risco para a gestação, como a *Ruta graveolens* L. (arruda), *Plectranthus barbatus* A. (boldo), *Cinnamomum zeylanicum* B. (canela), *Laurus nobilis* L. (louro) e a *Symphytum officinale* L. (confrei), que são apenas algumas de muitas existentes (MENGUE et al., 2001).

Phyllanthus niruri L., espécie herbácea de 40 a 80 cm de altura, de nome popular quebra-pedra, possui emprego medicinal de longa data, sendo referida na literatura etnofarmacológica, unanimemente, para o tratamento de problemas renais, em especial, para o tratamento da litíase renal (LORENZI; MATOS, 2002), podendo ser empregada, entre tantos outros usos terapêuticos, no tratamento da ansiedade, hipertensão, na redução de lipídeos plasmáticos e como anti-inflamatória, segundo dados etnofarmacológicos. Igualmente a uma

série de outras espécies de plantas de uso medicinal, a espécie *P. niruri* tem seu uso contraindicado durante o período gestacional e de lactação, sendo até mesmo mencionada como abortiva, porém não possui dados científicos na literatura consultada, que avaliem e confirmem seus efeitos durante os períodos críticos de desenvolvimento, sendo apenas encontrados estudos do efeito abortivo para a espécie *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn (RODRIGUES et al., 2011).

Tendo em vista que a gestação e lactação constituem períodos vulneráveis para o desenvolvimento da prole, e que o uso da *P. niruri* durante esses períodos pode ser um fator de risco, surge então, a hipótese de que esta pode apresentar efeitos deletérios aos neonatos e, principalmente, as progenitoras devido à presença de metabólitos secundários muito ativos biologicamente, como os alcaloides (SANDINI et al., 2013). No entanto, ainda não se sabe os reais efeitos provocados no desenvolvimento e crescimento somático da prole de ratas tratadas com a administração do extrato de *P. niruri* durante a gravidez e a lactação. Períodos estes, em que o sistema nervoso central ainda está se diferenciando, podendo ser atingido por substâncias presentes no sangue materno através da placenta, durante a gestação, ou através do leite, durante a lactação (HOLLENBACH et al., 2010), podendo as alterações provocadas perdurar até a vida adulta.

Diante do exposto, este trabalho buscou investigar os efeitos que o extrato aquoso bruto de *P. niruri*, administrado durante a gestação e lactação, exerce sobre o desenvolvimento somático e o crescimento ponderal da prole de ratas, bem como os efeitos provocados às progenitoras durante o período de administração, ratificando as informações referentes ao uso da quebra-pedra durante a gestação e lactação.

2. OBJETIVOS

2.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do extrato aquoso bruto de *P. niruri* na gestação e lactação de ratas Wistar e a sua influencia sobre o desenvolvimento somático e físico da prole.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar sinais clínicos de toxicidade em ratas tratadas com *P. niruri* durante a gestação e lactação;
- Verificar o desenvolvimento somático dos filhotes;
- Avaliar o desenvolvimento físico da prole;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Phyllanthus niruri* L.

Phyllanthus niruri, espécie pertencente à família Phyllanthaceae, é uma erva anual de pequeno porte, medindo até 80 cm de altura, nativa da América do Sul e de ampla distribuição geográfica no território brasileiro, ocorrendo nos biomas Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (SECO et al., 2015). Seu crescimento ocorre especialmente durante o período de estação chuvosa, ocorrendo em todo tipo de solo, sendo comum seu crescimento nas fendas de calçadas, terrenos baldios, quintais e jardins (LORENZI; MATOS, 2002).

Conhecida popularmente como quebra-pedra, arrebenta-pedra e erva-pombinha, *P. niruri* distingue-se de outras espécies do gênero *Phyllanthus* (*P. amarus*, *P. tenellus* e *P. urinaria*), semelhantes vegetativamente e conhecidas pelos mesmos nomes populares, por apresentar discretas diferenças entre si, sendo facilmente diferenciadas, principalmente, pela base foliar (simétrica em *P. amarus* e assimétrica em *P. niruri*), número de estames (5 ou 6 em *P. tenellus* e 3 em *P. niruri*) e pela união dos estames que ocorre em *P. urinaria* e não ocorre em *P. niruri*, conforme apresentado na figura 1 (SILVA; SALES, 2004; MARTINS; LIMA, 2011).

Macroscopicamente, a *P. niruri* (Figura 1) se apresenta ainda como uma planta herbácea, glabra, de caules simples ou ramificados, folhas alternas, dísticas, simples, membranáceas, glabras, oblongo-elípticas, de ápice atenuado, às vezes mucronado e base assimétrica, margem lisa; lâminas discolores, face adaxial de cor verde-oliva e face abaxial verde-pálida a cinza-pálida. Flores femininas isoladas e axilares nos nós apicais, com cinco tépalas elípticas e disco inteiro, carnoso; ovário tricarpelar, trilocular. Flores masculinas em fascículos de uma a duas flores, dispostas nos nós basais, com cinco tépalas largo-ovaladas e três estames com filetes conatos na base. Frutos esquizocárpicos expostos para a região abaxial dos ramos com cálice persistente, membranáceo, desenvolvido (BRASIL 2010a).

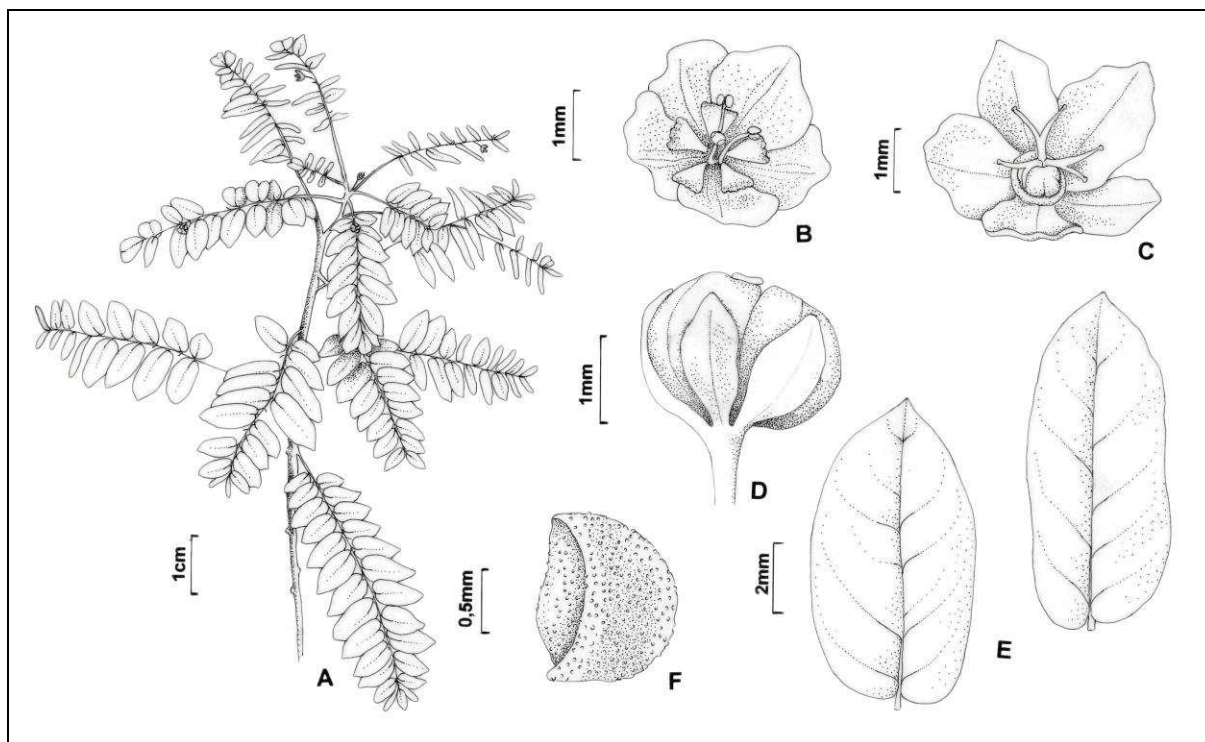


Figura 1. Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus niruri* L. - A. hábito da planta; B. flor masculina com três estames; C. flor feminina com ovário; D. fruto, tépalas persistentes; E. folhas de base assimétrica; F. semente.

Fonte: BRASIL, 2010a.

3.1.1 Fitoquímica

Vários metabólitos secundários de diversas classes de compostos importantes têm sido identificados nas partes constituintes da *P. niruri*, algumas classes desses metabólitos secundários incluem: taninos como a geranina, isocumarinas, alcaloides como a nirurina, lignanas como a nirantina, compostos fenólicos e terpenóides (NASCIMENTO, 2008).

De acordo com Nascimeto et al. (2008), triagem fitoquímica cromatográfica realizada com as partes aéreas de *P. niruri*, principal parte utilizada na medicina fitoterápica, demonstraram a presença de antraquinonas, antraquinonas glicosídicas, flavonóides, taninos, terpenóides e naftoquinonas.

Nas partes aéreas desta espécie podem ser encontrados derivados isocumarínicos como o metil brevifolincarboxilato e alcaloides pirrozilidínicos como securinina, norsecurinina e 4-metoxi-dihidronorsecurinina (HASSARAJANI; MULCHANDANI, 1990; IIZUKA et al., 2007). Enquanto que flavonas como 8-(3-metil-but-2-enil)-2-fenil croman-4-ona e 2-(4-hidroxifenil)-8-(3-metil-but-2-enil)-croman-4-ona; polifenóis como 1-O-galioil-6-O-luteoil- α -D-glicose, β -glicogalina, quercetina 3-O- β -D-glicopiranosil-(2 \rightarrow 1)-O- β -D-xilopiranosídeo, β -

sitosterol e ácido gálico; e terpenóides como 2-metilhexadeca-2-eno são descritos na literatura como compostos químicos isolados dos extratos obtidos de todo o material vegetal (KOTOKY et al., 2005; SUBEKI et al., 2005; SHAKIL et al., 2008).

3.1.2 Aspectos etnofarmacológicos

A quebra-pedra, como é comumente conhecida a espécie *P. niruri*, possui diversos usos medicinais, sendo amplamente reconhecida pelas suas propriedades terapêuticas no combate à cálculos renais e biliares, nefrite, empregado no tratamento da hipertensão arterial, diarreia, hepatites B e C (agudas e crônicas), possui ação analgésica, relaxante muscular e dos ureteres (DANTAS, 2008; PAITHANKAR et al., 2011), sendo ainda utilizada tradicionalmente para o tratamento da diabetes. (BORGES et al., 2008).

Em levantamento etnobotânico realizado no município de Cuité/Paraíba, sobre o conhecimento e uso de plantas medicinais a *P. niruri* foi identificada como sendo uma planta medicinal de emprego comum entre os moradores dessa localidade, os quais relataram utilizar as raízes de quebra-pedra com a finalidade terapêutica de eliminar pedras nos rins (dados não mostrados).

Contrariamente, pesquisas etnobotânicas/etnofarmacológicas procedidas nos estados de Minas Gerais, Paraíba, Paraná e Rio de Janeiro, quanto ao uso popular de plantas medicinais, registraram o uso de *P. niruri* no tratamento de problemas renais, sendo a mesma indicada ainda para o tratamento de distúrbios da próstata, “ardência na urina”, enfermidades da bexiga e como diurética, na qual as partes aéreas foram a principal parte utilizada (MARTINAZZO; MARTINS, 2004; BRITO et al., 2009; OLIVEIRA; MENINI NETO, 2012; LOPES; PANTOJA, 2013).

Segundo Carneiro et al. (2014), ao realizar levantamento bibliográfico sobre as tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil, constatou-se que a quebra-pedra possui diversas indicações terapêuticas, podendo ser utilizada para tratamento da ansiedade, dermatite, diarreia, cefaleia, hemorroidas, hipertensão, leucemia e perda de memória.

Devido seu enorme potencial terapêutico, no ano de 2009, o Ministério da Saúde incluiu a *P. niruri* a uma relação de plantas medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), juntamente com outras 70 plantas medicinais (BRASIL, 2009). No ano seguinte, esta espécie foi incluída a uma lista elaborada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), de várias plantas medicinais de uso tradicional com efeito comprovado

cientificamente, apresentado as formas corretas de uso, contraindicações e efeitos adversos (BRASIL, 2010b).

Entre as contraindicações, está o uso durante a gravidez e lactação (BRASIL, 2010b; GRANDI, 2014). Da Silva et al. (2010) realizaram um estudo sobre o uso de plantas abortivas por mulheres do Município De Bom Jardim/Pernambuco, e a quebra pedra (*P. niruri*) foi citada como sendo utilizada para a prática do aborto. Segundo estudo realizado por Bakke et al. (2008), sobre o conhecimento do uso de plantas abortivas, as raízes da quebra-pedra são reconhecidas como sendo abortiva pelas alunas da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, sendo a planta mais relatada para esta finalidade.

3.2 DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL

O desenvolvimento embrio-fetal de mamíferos pode-ser dividido em quatro períodos: pré-implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e período neonatal (CAMARGO, 2010).

O período correspondente ao desenvolvimento inicial (pré-implantação e implantação embrionária) compreende o período que vai desde a fecundação até a implantação do blastocisto no útero, que ocorre antes da segunda semana de desenvolvimento em humanos e até o 6º dia em ratos, aproximadamente, é caracterizada pela presença do embrião com células totipotentes em divisão (FRITZ; GIESE, 1990; LEMONICA, 2008). Neste período a exposição a um agente tóxico pode impedir a implantação do blastocisto no útero (ROGERS; KALVLOCK, 2012).

Após a implantação, inicia-se a fase de organogênese, com início da segunda à oitava semana pós-fecundação em mulheres e que vai do 7º ao 15º dia em ratas. Esse período é caracterizado por uma intensa proliferação e migração celular, remodelamento tissular e formação rudimentar das estruturas e órgãos do corpo (BRENT et al., 1993; LEMONICA, 2008).

O final da organogênese marca o início da terceira fase, conhecida como período fetal, que é caracterizada por diferenciação e crescimento tissular, maturação fisiológica dos diferentes sistemas e crescimento ponderal do feto, compreende oito semanas completas pós-fertilização até o término em mulheres e em ratas corresponde do 16º ao 21º dia de prenhez (FRITZ; GIESE, 1990; ROGERS; KALVLOCK, 2012). Nesse período, todos os órgãos estão presentes e grosseiramente reconhecíveis, embora ainda não desenvolvidos por completo, o sistema nervoso central, bem como o crescimento ponderal do feto ainda estão em

diferenciação (LEMONICA, 2008; LIMA, 2014). Após esta fase, dá-se início ao período neonatal, que ocorre apenas crescimento e maturação fisiológica. Vai até o 28º dia após o nascimento em humanos e até o 10º dia em ratos, compreendendo o início da lactação (LIMA, 2014).

Quanto aos efeitos adversos provocados por agentes químicos durante os períodos de exposição. Durante a pré-implantação, chamado de período do “tudo ou nada”, a exposição materna a agentes tóxicos geralmente resulta em nenhum ou ligeiros efeitos sobre o crescimento ou em morte da prole, ou seja, dependendo do número de células atingidas, ocorre ou a reposição das células atingidas por células normais e como produto final um indivíduo normal ou, se atingindo em grande número de células, a embriofetividade; a organogênese é o período de maior susceptibilidade à ação de agentes químicos e único período teratogênico da gestação, sendo considerado o período mais crítico, no qual o maior número de malformações pode ser induzido; e por fim, o período fetal em que a exposição materna pode indubitavelmente interferir com processos de proliferação celular que resultam em alterações funcionais de importantes sistemas, como Sistema Nervoso Central, além de causar retardo geral de desenvolvimento (BRENT et al., 1993; AUROUX, 1997; LEMONICA, 2008; ROGERS; KAVLOCK, 2012).

4. METODOLOGIA

4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

A coleta da espécie vegetal (*Phyllanthus niruri*) foi realizada no município de Cuité, situado na microrregião do Curimataú Ocidental paraibano, com área de 741,840km², e população de 19.978 habitantes e que tem a Caatinga como bioma (IBGE, 2010). As partes aéreas de *P. niruri* foram coletadas em março de 2017, durante o período da estação chuvosa na região.

A coleta foi iniciada no período da manhã (7:00 h), tomando-se cuidado para esperar que todo o orvalho evaporasse antes de iniciar a coleta, que fora realizada manualmente, coletando apenas espécimes que medissem em média cerca de 40 cm ou mais. Após a coleta, a espécie foi identificada e sua exsicata depositada no Herbário do Departamento de Botânica da UFCG – campus Cuité/Paraíba.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO

As partes aéreas de *P. niruri* foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante a 40°C por três dias, sendo então trituradas em liquidificador para fornecer um pó fino. O extrato aquoso foi obtido por infusão durante 15 minutos, em água destilada a 80 a 90°C, utilizando a proporção de 3 g das partes aéreas moídas em 150 mL do solvente (BRASIL, 2010b; BRASIL, 2011). Após 30 minutos de repouso, o material foi filtrado em papel filtro e, em seguida, acondicionado em um frasco de vidro âmbar na geladeira a 5 °C. O solvente foi totalmente removido a 40°C, a pressão reduzida, em rota evaporador.

4.3 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Para este estudo, foram utilizadas fêmeas primíparas, da linhagem Wistar, com idade entre 90 e 120 dias e peso de, aproximadamente, 250 ± 50 g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sendo mantidos no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX) do Centro de Educação e Saúde (CES), da UFCG - campus Cuité/Paraíba. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno, em condições-padrão: temperatura de 22 ± 1°C, com ciclo claro-escuro de doze horas controlado automaticamente

(início da fase clara às 6:00 h), umidade de $\pm 65\%$, tendo livre acesso à água e a ração da marca Presence®, durante todo o procedimento experimental.

A pesquisa seguiu o protocolo experimental segundo as recomendações éticas do *National Institute of Health Bethesda* (Bethesda, USA), com relação aos cuidados com os animais.

4.3.1 Acasalamento e diagnóstico da prenhez

Fêmeas primíparas foram acasaladas por 24 horas, com machos férteis, uma fêmea para cada macho, a fim de obter filhotes machos para viabilidade da pesquisa.

O diagnóstico da prenhez foi confirmado através da visualização de espermatozoides no esfregaço vaginal, avaliados a fresco, em microscopia óptica com aumento de 400X (Figura 2), sendo este considerado o dia zero da gestação (d0) (LAURA, 2009). Após a confirmação da prenhez, as ratas gestantes foram separadas e alojadas em gaiolas-maternidade individuais, sendo distribuídas nos grupos experimentais, recebendo água destilada e o extrato aquoso das partes aéreas de *P. niruri* por meio de gavagem do primeiro dia de gestação até o final da lactação.

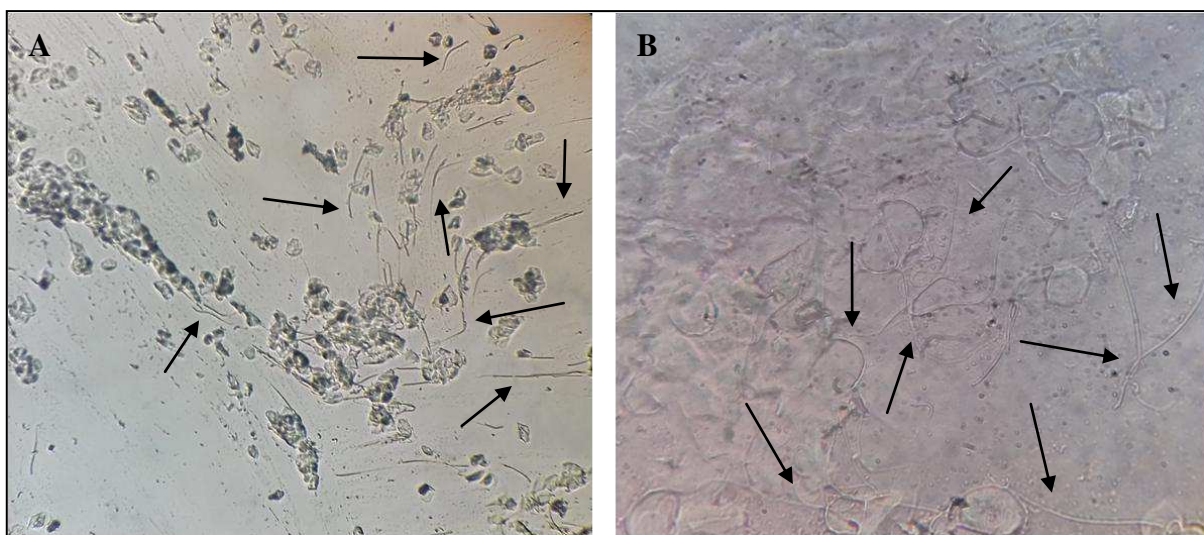


Figura 2. Visualização de espermatozoides no esfregaço vaginal a fresco em microscopia óptica: (A) aumento de 100X; (B) aumento de 400X.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

4.4 DETERMINAÇÃO DA DOSAGEM E GRUPOS EXPERIMENTAIS

A dose adotada foi calculada considerando a dose recomendada para uso em adultos humanos para tratar a litíase renal, consumo diário de duas a três xícaras de chá, preparado

com as partes aéreas em infusão (BRASIL, 2011) e determinada com base em estudos prévios que avaliaram a atividade antimalárica, gastroprotetora, antiulcerogênica, genotóxica e antigenotóxica (TONA et al., 2001; ABDULLA et al., 2010; BEBER; ROCHA, 2013; QUEIROZ et al., 2013).

Para a realização da pesquisa, 11 ratas prenhas foram distribuídas, aleatoriamente, em dois grupos, controle e experimental, com seis e cinco animais, respectivamente, este último tratado com o extrato aquoso bruto de *P. niruri* e o grupo controle tratado com água destilada, de acordo com o seguinte esquema de tratamento diário, durante a gestação e lactação:

- Grupo Controle (GC) – recebeu, via gavagem, água destilada;
- Grupo Extrato Aquoso de *P. niruri* (GEA-PN) – recebeu, via gavagem, o extrato aquoso de *P. niruri*, na dose diária de 150 mg/Kg de peso corporal (7.5 mL/Kg).

As ninhadas foram padronizadas em 6 filhotes que foram amamentados até o 21º dia. Durante todo o período de lactação, os neonatos foram submetidos aos testes de maturação somática e avaliação do desenvolvimento físico. Passados 21 dias de lactação, os filhotes foram desmamados.

4.5 SINAIS GERAIS DE TOXICIDADE NAS MÃES

Durante o experimento, as ratas foram observadas, diariamente, para a verificação da possível ocorrência de sinais clínicos de toxicidade, como piloereção, diarreia, frêmito vocal, tremores, agressividade, hemorragias nasal e vaginal, queda de pelos e mortes. A observação foi feita diariamente antes e após a administração do extrato, durante todo o período de gestação e de lactação. O quadro 1 mostra as avaliações clínicas efetuadas nas ratas tratadas, adaptadas daquelas propostas por Brito (1994).

Quadro 1. Avaliações clínicas para observação da toxicidade aguda nas progenitoras. Adaptado de Brito (1994).

(Continua)

Observações gerais	Descrições dos sinais de toxicidade aguda
Piloereção	Pelos do animal eretos (arrepiaados).
Diarreia	Alteração na defecação nitidamente diferente do normal.
Frêmito Vocal	Emissão de som diferente do normal sem nenhuma estimulação ou toque.

Quadro 1. Avaliações clínicas para observação da toxicidade aguda nas progenitoras. Adaptado de Brito (1994).

(Continuação)

Observações gerais	Descrições dos sinais de toxicidade aguda
Queda de Pelos	Presença de áreas calvas no corpo do animal.
Agressividade	Observar se há reação diferente da normal ao tocar levemente o animal.
Hemorragia Nasal	Ocorrência de sangramento pelas narinas.
Hemorragia Vaginal	Perda de sangue pela vagina.
Morte	Anotar o período em que ocorreu e, se possível, descrever os episódios anteriores à morte.

4.5.1 Avaliação do peso corpóreo das progenitoras

O peso corporal de cada progenitora foi registrada diariamente, desde o início da prenhez até o 21º dia de prenhez. Com esses resultados, as progenitoras foram avaliadas quanto ao ganho de peso corporal.

O ganho de peso corpóreo foi avaliado semanalmente, calculado pela diferença do 7º dia de gestação e o dia em que foram encontrados espermatozóides no esfregaço vaginal, entre o 14º dia e o 7º dia de gestação, e por fim, entre o final da prenhez e o 14º dia de gestação.

4.6 DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DOS FILHOTES

As proles foram avaliadas quanto aos possíveis efeitos sobre a maturação somática, sendo avaliados a partir 1º dia até o 21º dia pós-natal, como forma de determinar o dia em que a maturação somática foi completa, utilizando os seguintes indicadores de desenvolvimento somático: abertura do pavilhão auricular, abertura do conduto auditivo, erupção dos dentes incisivos superiores e inferiores, abertura dos olhos e aparecimento dos pelos epidérmicos. Os dias em que esses eventos ocorreram foram anotados para comparação de desenvolvimento entre os grupos.

Quadro 2. Indicadores de maturação somática. Adaptado de Vasconcelos et al. (2012) e Pereira (2014).

Indicador	Procedimento
Abertura do pavilhão auricular	O pavilhão auricular aberto foi detectado no dia em que observou seu desdobramento completo para a posição ereta. Nesta avaliação, a maturação foi considerada positiva quando os dois pavilhões estiveram desdobrados (Figura 3A).
Abertura do conduto auditivo	Considerou positiva a abertura do conduto auditivo no dia em que os orifícios auriculares direito e esquerdo encontraram-se abertos, podendo ser visualizados. Para confirmação deste indicador, cada animal foi submetido a estímulo agudo sonoro, e a presença de reação ao estímulo foi considerada positiva para a abertura do conduto auditivo (Figura 3B).
Erupção dos dentes incisivos superiores e inferiores	Foi registrado individualmente o dia em que se observou o rompimento da gengiva pelas cúspides dos dentes incisivos superiores e inferiores. Levou-se em consideração a resposta positiva quando ambos os incisivos, sejam eles superiores ou inferiores, estiveram expostos (Figura 3C).
Abertura dos olhos	A resposta foi considerada positiva quando houve a abertura bilateral completa das pálpebras e os dois olhos estavam abertos (Figura 3D).
Aparecimento dos pelos epidérmicos	As observações foram feitas, diariamente, até a detecção de surgimento de pelos na cabeça, membros e dorso dos animais, confirmado através do deslizamento dos dedos sobre a epiderme do animal (Figura 3E).

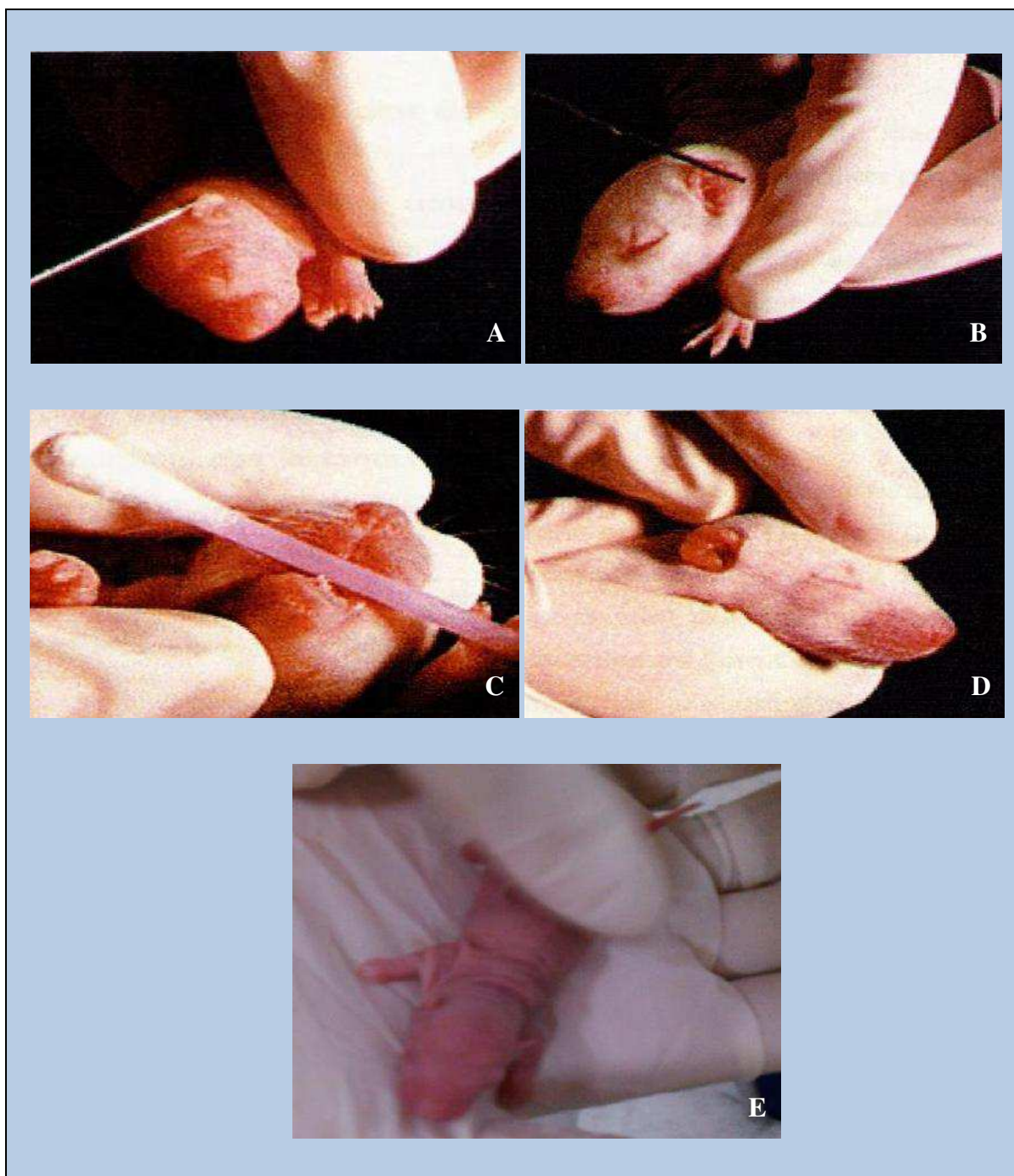


Figura 3. Fotografias dos parâmetros de maturação somática observados: (A) Abertura do pavilhão auricular; (B) Abertura do conduto auditivo; (C) Erupção dos incisivos; (D) Abertura dos olhos; (E) Aparecimento de pelos epidérmicos.

Fonte: Adaptado de Barros, 1999 e Pereira, 2014.

4.7 CARACTERÍSTICAS DE MATURAÇÃO FÍSICA DOS FILHOTES

O progresso de cada animal foi acompanhado durante todo o experimento, durante os 21 dias de lactação. Medidas do peso corporal, comprimento da cauda (Figura 4) e o eixo ântero-posterior do corpo (Figura 5) foram utilizados para avaliar o crescimento físico. O comprimento da cauda (distância entre a base e a extremidade da cauda) e o comprimento naso-anal (distância entre o focinho e o ânus) foram medidos diariamente com um paquímetro com 0,01 milímetros de precisão. O peso corporal de cada filhote foi aferido diariamente desde o primeiro dia de vida até o 21º, com a utilização de balança semi-analítica da marca Balmak® (Figura 6).

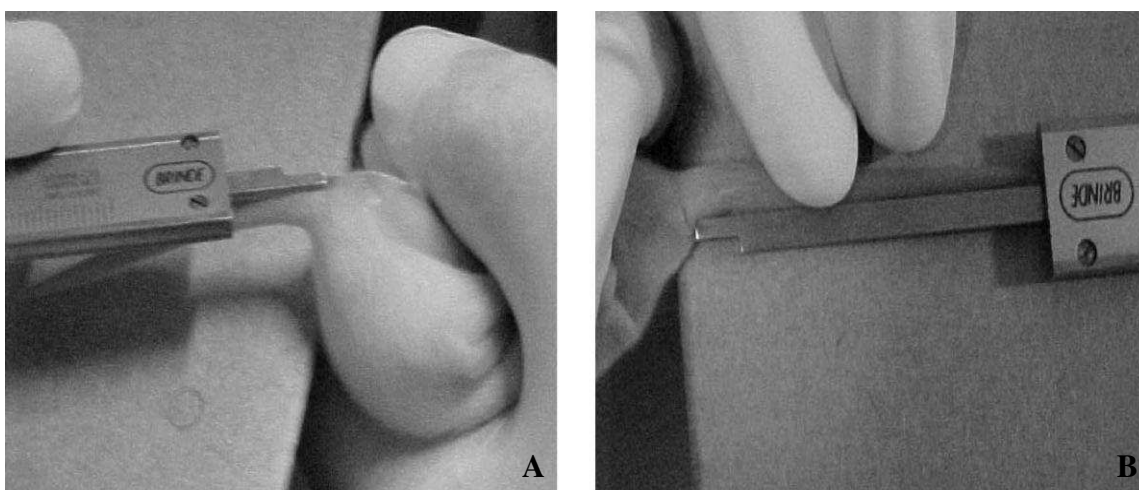


Figura 4. Avaliação do comprimento da cauda. (A) localização da base da cauda; (B) Medida da cauda do ponto do ânus até o final da cauda esticada.

Fonte: (SILVA et al., 2005).



Figura 5. Avaliação do eixo ântero-posterior do corpo (comprimento naso-anal) considerando os pontos da região do ânus e o focinho do animal.

Fonte: (SILVA et al., 2005).



Figura 6. Aferição do peso da prole de ratas tratadas com EAPN durante a gestação e lactação.

Fonte: (PEREIRA, 2014).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando o teste t Student. Os valores obtidos foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) e como mediana, para a avaliação do desenvolvimento somático, sendo considerados significativos quando apresentaram nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Todos os dados foram analisados pelo programa estatístico *software* Sigma Stat 3.1.

5. RESULTADOS

5.1 TOXICIDADE SISTÊMICA NAS PROGENITORAS

5.1.1 Sinais clínicos de toxicidade

O tratamento com o EAPN (150 mg/Kg) durante o período gestacional (d1-d21) provocou alguns sinais clínicos de toxicidade sistêmica nas progenitoras. Na fase correspondente a pré-implantação (d0-d6), os sinais clínicos de toxicidade consistiram em frêmito vocal (2/5), tremores (1/5) e hemorragia nasal (2/5). Posteriormente, na fase correspondente a organogênese (d7-d15), os sinais provocados nas progenitoras foram frêmito vocal (1/5), agressividade (2/5), hemorragia nasal (3/5) e hemorragia vaginal (2/5). Após esta fase, na terceira e última do período gestacional, na fase fetal (d16-d21), sinais clínicos de toxicidade, tal como frêmito vocal (1/5), agressividade (1/5), hemorragia nasal (2/5) e hemorragia vaginal (1/5) foram observados entre as ratas gestantes. Além disso, houve registro de um óbito no 20º dia de tratamento, que ocorreu posteriormente a uma hemorragia vaginal no d19 (Figura 7). Sinais estes, que não foram observados nos animais do grupo controle (GC), como demonstrado na tabela 1.

Tabela 1. Sinais gerais de toxicidade sistêmica em ratas Wistar tratadas por via oral durante o período de gestação com EAPN.

Sinais Gerais de Toxicidade	Grupos	
	Grupo Controle	Grupo Extrato <i>P. niruri</i>
Piloereção	0/6	0/5
Diarreia	0/6	0/5
Queda de Pelos	0/6	0/5
Frêmito Vocal	0/6	2/5
Tremores	0/6	1/5
Agressividade	0/6	3/5
Hemorragia Nasal	0/6	3/5
Hemorragia Vaginal	0/6	2/5
Morte	0/6	1/5



Figura 7. Efeito do tratamento por via oral com EAPN no período gestacional. Sinal clínico de toxicidade sistêmica (hemorragia vaginal) exibida durante a fase fetal.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Durante o período pós-natal (lactação), que compreende o 1º dia até o 21º dia pós-natal, os únicos sinais clínicos de toxicidade observados entre as lactantes foram frêmito vocal (1/4) e hemorragia nasal (2/4) (Tabela 2). Assim como no período de gestação, não foram observados sinais clínicos de toxicidade sistêmica em nenhum dos animais do grupo controle (lactantes).

Tabela 2. Sinais gerais de toxicidade sistêmica em ratas Wistar tratadas por via oral durante o período de lactação com EAPN.

Sinais Gerais de Toxicidade	Grupos	
	Grupo Controle	Grupo Extrato <i>P. niruri</i>
Piloereção	0/6	0/4
Diarreia	0/6	0/4
Queda de Pelos	0/6	0/4
Frêmito Vocal	0/6	1/4
Tremores	0/6	0/4
Agressividade	0/6	0/4
Hemorragia Nasal	0/6	2/4
Hemorragia Vaginal	0/6	0/4
Morte	0/6	0/4

5.1.2 Ganho de peso corporal das progenitoras

Com relação ao ganho de peso corporal das progenitoras, o tratamento com EAPN não interferiu com no de peso corporal, uma vez que ambos os grupos exibiram ganho de peso corpóreo de evolução estatisticamente semelhante durante toda gestação (d1-d21), conforme apresentado na figura 8.

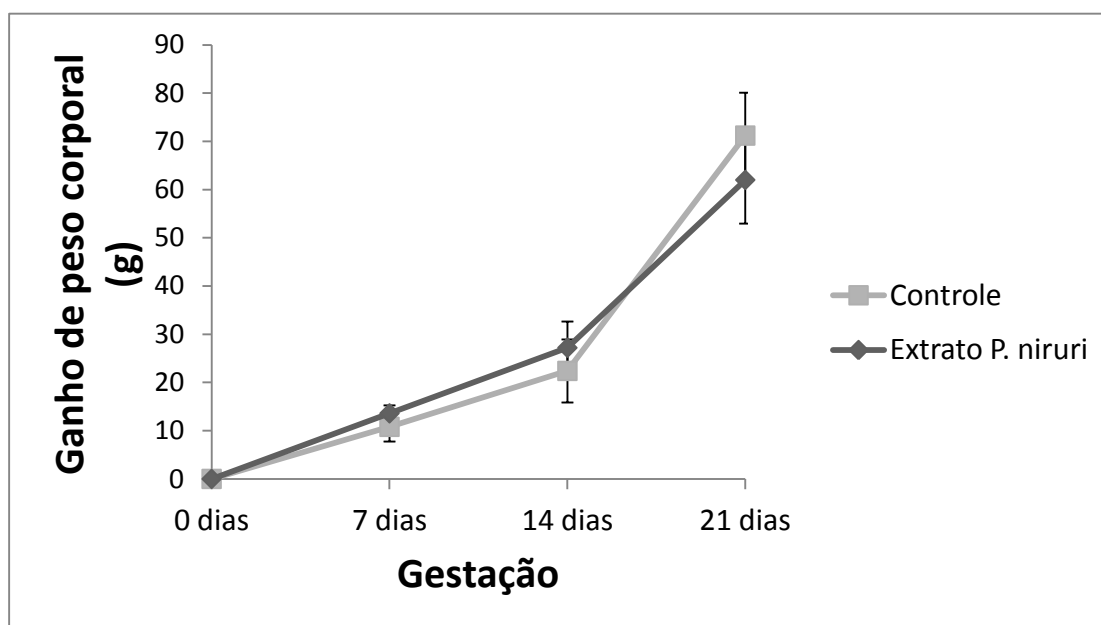


Figura 8. Ganho de peso corporal de ratas Wistar tratadas com EAPN, durante os 21 dias de gestação. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

5.2 MATURAÇÃO SOMÁTICA DOS FILHOTES

O desenvolvimento somático da progênie de ratas tratadas durante a gestação e lactação, com o extrato aquoso (GEA-PN), exibiu diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) em relação aos animais do grupo controle, ao analisarmos os seguintes indicadores: abertura do conduto auditivo, abertura dos olhos, aparecimento de pelos epidérmicos e erupção dos dentes incisivos inferiores (Tabela 3). É importante ressaltar que houve atraso apenas na erupção dos dentes incisivos inferiores da prole pertencente ao grupo experimental quando comparado ao grupo controle ($p < 0,001$).

Tabela 3. Indicadores de maturação somática da progênie de ratas tratadas com EAPN durante a gestação e a lactação.

Maturação Somática	Grupos	
	Grupo Controle	Grupo Extrato <i>P. niruri</i>
Aberturado Pavilhão Auricular	3 (2-3)	3 (2-3)
Abertura do Conduto Auditivo	12.5 (11-14)	12 (11-13)*
Abertura dos Olhos	15 (13-15)	14 (13-14)*
Erupção dos Dentes Incisivos Superiores	10.5 (9-14)	10 (10-11)
Erupção dos Dentes Incisivos Inferiores	4 (3-5)	11 (8-13)**
Aparecimento de Pelo Epidérmico	3.5 (3-4)	2 (2-2)**

Dados expressos em valores de mediana (mínimo e máximo). Para análise estatística foi aplicado teste t Student. Valores com nível de significância em relação ao grupo controle são indicados pelos índices * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.001$).

5.3 DESENVOLVIMENTO FÍSICO DOS FILHOTES

5.3.1 Peso corporal da progênie

Com relação ao ganho de peso dos filhotes durante o período de lactação, o grupo dos animais amamentados com leite materno de ratas lactantes expostas ao EAPN (150 mg/Kg), durante a gestação e lactação, apresentou elevação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no peso corpóreo quando comparado aos animais controle, do 7º ao 21º dia pós-natal. O grupo avaliado (GEA-PN) diferiu do 7º ao 21º dia de vida com valores médios e DP, respectivamente de $17,67 \pm 0,78$; $31,83 \pm 1,03$ e $47,83 \pm 2,48$ em relação ao GC ($16,33 \pm 1,15$; $29,50 \pm 2,11$ e $43,67 \pm 3,37$) para o 7º, 14º e 21º dia pós-natal, conforme exibido na figura 11.

Adicionalmente, de acordo com os resultados, o peso corporal da progênie exibiu um aumento considerável no ganho de peso dos filhotes de 8,20% no 7º dia pós-nascimento e alcançando 9,52% de aumento no ganho de peso no final do período de lactação, que corresponde ao 21º dia de vida, em relação à progênie do grupo controle.

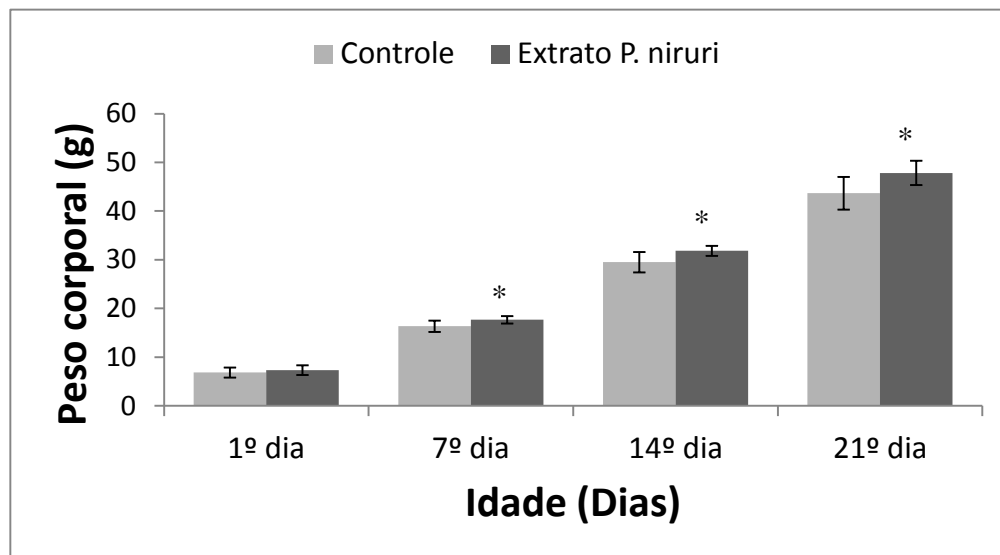


Figura 9. Peso corpóreo da prole de ratas Wistar tratadas com EAPN, durante os 21 dias de gestação. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

5.3.2 Comprimento da cauda

Quanto à evolução do comprimento da cauda da progênie, este foi alterado pela administração do extrato aquoso, durante a gestação e lactação. Nota-se diferença estatística no 1º ($p < 0,001$) e 21º ($p < 0,05$) dia de vida, com valores médios e DP de comprimento caudal, respectivamente, de $1,78 \pm 0,07$ e $7,51 \pm 0,31$ centímetros (cm) nos animais do grupo GEA-PN comparado a, $1,42 \pm 0,31$ e $7.29 \pm 0,18$ no grupo GC (Figura 9).

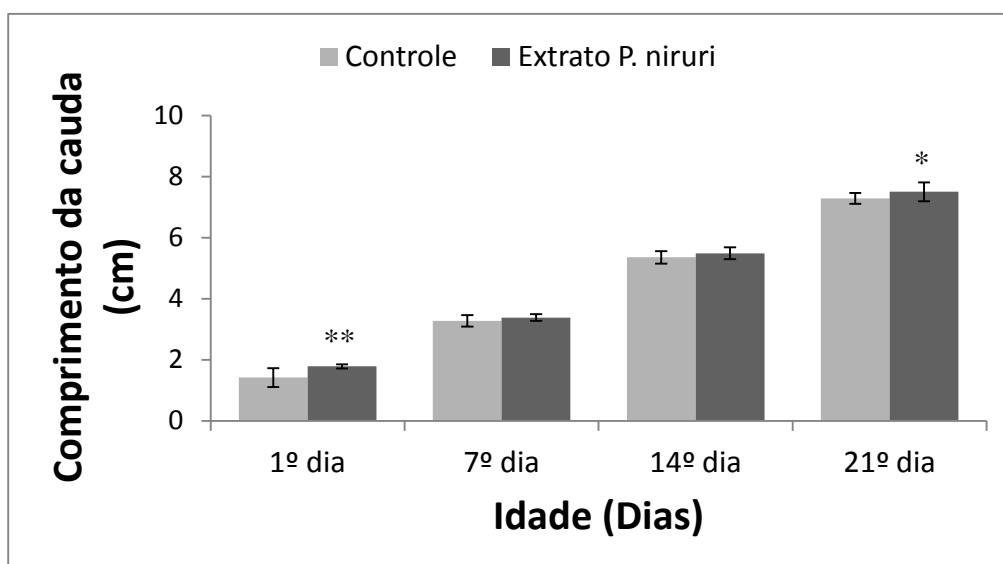


Figura 10. Comprimento da cauda da progênie de ratas Wistar tratadas com EAPN, durante os 21 dias de gestação e lactação. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

5.3.3 Comprimento naso-anal

No que diz respeito ao crescimento do eixo ântero-posterior do corpo (naso-anal) dos lactantes, os animais tratados com o extrato aquoso (GEA-PN) apresentaram maior comprimento em relação ao GC, com diferença estatística no 1º dia de vida ($p < 0,001$), exibindo valores médios e DP de $5,44 \pm 0,25$ centímetros comparado a $4,78 \pm 0,36$ no grupo GC. Durante os outros períodos avaliados (7º, 14º e 21º dia pós-natal) não foram encontrados diferença estatística significativa entre os grupos, conforme exibido na figura 10.

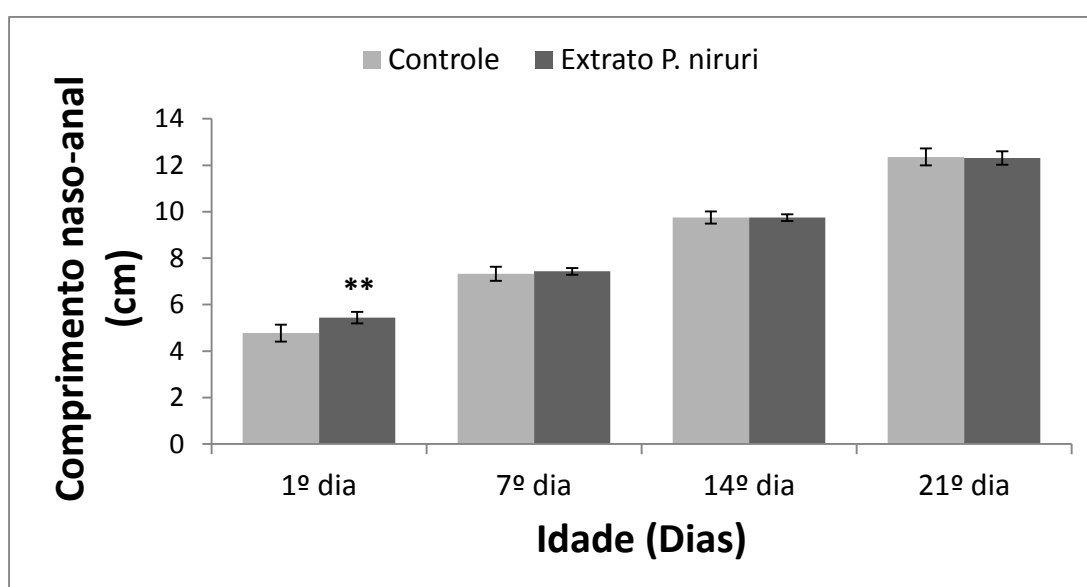


Figura 11. Comprimento naso-anal de neonatos no período de lactação do 1º ao 21º dia de vida. Dados expressos em média \pm DP. Para análise estatística, foi aplicado teste t Student, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

P. niruri é uma espécie de planta bastante utilizada na medicina tradicional por suas diversas propriedades terapêuticas, das quais, destacam-se, principalmente, seu uso na litíase urinária. Contudo, são escassos os estudos sobre sua atividade toxicológica e, estudos que avaliem os efeitos da administração dessa planta durante o período gestacional e pós-natal são inexistentes, sendo encontrados apenas estudos com a *Phyllanthus amarus*, espécie pertencente à mesma família e gênero da *P. niruri*.

Desta forma, este estudo buscou investigar os possíveis efeitos da *P. niruri* sobre o desenvolvimento somático da prole de ratas tratadas com o extrato aquoso de quebra-pedra durante o período de pré-implantação embrionária, organogênese, desenvolvimento fetal e lactação, bem como sinais clínicos de toxicidade materna, investigações estas escassas na literatura, até o momento.

Durante a gravidez, substâncias químicas, drogas ou até mesmo a administração de extratos de plantas podem provocar diversos efeitos adversos que podem se manifestar como abortos, anomalias fetais ou desenvolvimento retardado (LEMONICA; ALVARENGA 1994; DAMASCENO; LEMONICA 1999; MELLO et al., 2005; DALLAQUA et al., 2013). No entanto, inúmeras plantas vêm sendo avaliadas quanto aos seus efeitos, quando estas são administradas durante o período gestacional, demonstrando total ausência de efeitos deletérios (SACHETTI et al., 2011; ROCHA et al., 2012; VOLPATO et al., 2015).

Em geral, mortes maternas e a redução de peso corporal são índices simples e sensíveis de toxicidade após a exposição a substâncias tóxicas (RAZA et al., 2002; TEO et al., 2002), sendo importante que os animais sobreviventes não percam mais do que 10% do seu peso corporal inicial, que costuma ser indicativo de toxicidade (KLAASSEN; WATKINS, 2012).

Uma redução do peso corporal ou diminuição no ganho de peso podem evidenciar diversas respostas, incluindo anorexia ou toxicidade induzida pelo tratamento sistêmico, que podem acarretar em restrição do crescimento intrauterino (SANTOS et al., 2016). Sendo bem descrito na literatura, a relação da utilização de plantas medicinais de uso popular em ratas grávidas com a ocorrência de toxicidade materna, evidenciada, entre outros parâmetros, por alterações nesses parâmetros (OLIVEIRA et al., 2010; DENT et al., 2012; ELMAZOUUDY et al., 2018). No entanto, neste estudo, ao avaliar o ganho de peso materno, não observou-se

influência da administração do EAPN, sobre esse parâmetro ao compararmos o grupo experimental com o grupo controle ($p < 0.05$).

Por outro lado, foram observadas alterações físicas e comportamentais, tais como, sangramentos nasal e vaginal, frêmito vocal, tremor e agressividade, durante os períodos da gestação (pré-implantação, organogênese e fetal), e sangramento nasal e frêmito vocal no período de lactação. Estes resultados sugerem que a administração de *P. niruri* é capaz de provocar toxicidade materna sistêmica, durante os períodos avaliados (Tabelas 1 e 2). Os resultados deste estudo são semelhantes aos encontrados por Lima (2014), que ao avaliar os efeitos da administração de *Copaifera duckei*, planta conhecida por suas propriedades medicinais, observou sinais de toxicidade materna, manifestada através da ocorrência de óbitos e alterações físicas e de comportamento (sinais clínicos), como: apatia, diarreia, piloereção, tremores, hemorragia nasal e vaginal, durante os períodos estudados (pré-implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e lactação), além da ocorrência de aborto espontâneo durante sua administração no período da organogênese. Estudo realizado por Iranloye et al. (2010) com o extrato aquoso das folhas de *Phyllanthus amarus* administrados em ratas durante o período correspondente a implantação (dia 6 a 8 da gestação), evidenciou que a administração do extrato na dose de 2000 mg/kg promoveu efeitos adversos durante este período, ocasionando abortos nas ratas tratadas, durante as primeiras semanas de gestação.

Sachetti et al. (2011) ao avaliarem os sinais clínicos de toxicidade aguda, após tratamento com *Copaifera reticulata*, em ratas prenhas, atribuíram a presença de alguns sinais clínicos de toxicidade (piloereção, diarreia e cromodacriorréia), ao estresse produzido durante o experimento, uma vez que os mesmos sinais foram detectados no grupo controle. Contudo, o mesmo não se aplica aos resultados encontrados neste estudo, uma vez que não foram evidenciados sinais clínicos de toxicidade materna, apresentados no grupo experimental, nos animais do grupo controle, eliminando qualquer relação da presença destes sinais com o estresse produzido.

Por outro lado, estudos desenvolvidos com derivados vegetais de diversas plantas medicinais, entre elas *Carapa guianensis*, *Buchenavia sp.*, *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*, *Passiflora incarnata*, *Piper methysticum* e *Sonchus oleraceus* não demonstraram interferência da administração destes sobre a gestação e/ou lactação, desenvolvimento ponderal, indicadores de toxicidade materna sistêmica e sobre o desenvolvimento pós-natal da prole (CASTRO et al., 2005; COSTA-SILVA et al., 2006; PINTO et al., 2007; FARIA et al.,

2008; FERREIRA et al., 2013; BOLL et al., 2014; ROMAN et al., 2014; SILVA, 2015). Quanto a esses estudos, deve-se levar em consideração que o período de administração não ocorreu durante toda a gestação, nem compreendeu o período de lactação, como realizado no presente estudo.

A avaliação da possível influência da substância em estudo sobre o organismo materno é fundamental, pois a toxicidade materna pode se manifestar como uma alteração transitória ou permanente na fisiologia materna, podendo refletir-se na saúde da prole, através do aparecimento de efeitos adversos durante o desenvolvimento embrionário, com malformações e outras alterações que podem perdurar até a vida adulta (BORGES et al., 2005). Tal fato permite compreender a relação de certas substâncias com o desenvolvimento físico, formação dos sistemas nervoso e endócrino, além de desordens funcionais e de comportamento na prole (ROGERS; KALVLOCK, 2012).

Embora os resultados da prenhez indiquem toxicidade do EAPN no organismo materno, sugerindo comprometer o desenvolvimento físico geral da prole, quando comparado ao grupo controle, não foram evidenciados efeitos adversos sobre os parâmetros de maturação somática e desenvolvimento físico dos filhotes. Tais resultados contradizem os resultados encontrados por Camargo (2010) e Mesquita (2010), que inferem a possível relação dos agentes responsáveis pela toxicidade materna com modificações de processos fisiológicos da placenta, interferindo com o fornecimento de nutrientes necessários para o feto, comprometendo seu desenvolvimento.

Semelhante aos nossos resultados, os extratos de *Krameria tomentosa*, *Zingiber officinale*, plantas medicinais de uso popular, e um fitoterápico (Sanativo®) constituído da associação de extratos de *Piptadenia columbrina*, *Schinus terebinthifolius*, *Physalis angulata* e *Cereus peruvianus* promoveram sinais de toxicidade nas progenitoras, porém, não foram observados efeitos deletérios aparentes sobre o desenvolvimento geral dos descendentes, sugerindo que as substâncias presentes nos extratos não interferiram negativamente no desenvolvimento da prole (LYRA, 2007; DISSABANDARA; CHANDRASEKARA, 2008; SANTOS, 2016). É importante ressaltar que os autores dos estudos citados, realizaram a administração desses extratos em períodos diferentes ao do presente estudo.

Observou-se em nosso estudo que, durante os 21 dias de lactação, todos os animais do grupo experimental e controle se mantiveram vivos e, assim permanecendo durante toda pesquisa, exibindo um índice de lactação de 100% cada (dados não mostrados). Índice este, que indica o percentual de sobrevivência da prole no 21º dia de nascimento em relação ao número

de animais nascidos, refletindo a capacidade da prole sobreviver até o desmame sem que haja alterações estruturais e funcionais em seu organismo que sejam incompatíveis com a vida (BEDRAN, 1988). Adicionalmente, os animais provenientes da progênie tratada com o EAPN mostraram ganho de peso corpóreo evidente; este aumento ponderal se deu a partir do 7º dia pós-natal, continuando durante todo o período de lactação (Figura 11). Em conjunto, esses dados indicam que a prole teve aleitamento e cuidados maternos adequados, evidenciando ainda, que durante a lactação não houve a manifestação de alterações morfofuncionais incompatíveis com a vida, demonstrado pelo índice de lactação (BEDRAN, 1998), nem retardo no desenvolvimento dos filhotes. Nossos resultados corroboram com estudo realizado por Lima (2014), que ao avaliar os efeitos do tratamento com *C. duckei*, durante a fase fetal e no período de lactação, observou maior ganho de peso da prole, mesmo após as progenitoras terem apresentado sinais de toxicidade materna sistêmica durante o experimento. Por outro lado, em contraste ao nosso estudo, Arruda et al. (2013) demonstraram através de sua pesquisa, que a prole de ratas tratadas na prenhez com o extrato aquoso de *Chamomilla recutita*, planta medicinal que também possui contraindicação na gestação, apresentaram menor ganho de peso após o nascimento, durante os dias analisados, sendo este, possivelmente, um dos fatores cruciais relacionado ao retardo do desenvolvimento (GERENUTTI et al., 1992).

Quanto à maturação somática, os resultados deste estudo apontaram diferença estatística entre o grupo tratado com EAPN quando comparado ao GC, para a antecipação da abertura do conduto auditivo, abertura dos olhos e aparecimento de pelos epidérmicos. Estes resultados, além de inéditos, sugerem que o tratamento com o extrato influenciou de forma positiva o desenvolvimento somático da prole. Uma vez que a abertura do conduto auditivo ocorre geralmente por volta do 12º e 15º dia de vida pós-natal, a abertura dos olhos entre o 12º e 16º dia de vida e o aparecimento de pelos epidérmicos, entre 5º e 8º dia de vida pós-natal (SCHWARZ, 2002; FARIA et al., 2005). Contudo, nesse experimento, a maturação desses mesmos parâmetros foi observada, respectivamente, entre o 11º e 13º dia de vida, 13º e 14º dia de vida e entre o 2º e 3º dia de vida para todos os animais GEA-PN. Parâmetros estes, que foram associados à produção de fator de crescimento epidérmico, que pode acelerar ou atrasar o curso do tempo desses parâmetros em ratos (HOATH, 1986; SMART et al., 1989).

Nesse sentido, Lima (2014) verificou que os filhotes de mães submetidas ao tratamento com *C. duckei*, no período de lactação, apresentaram aceleração do tempo de descolamento dos pavilhões auriculares, abertura dos olhos e abertura do canal vaginal das

descendentes fêmeas. Desta forma, podemos inferir que fitoconstituintes ou produtos de sua biotransformação no organismo foram capazes de atravessar a barreira placentária, atuar sobre as células em desenvolvimento e, conseqüentemente interferir de forma positiva no desenvolvimento físico da prole sem ocasionar danos (ØESTENSEN et al., 2006).

Por outro lado, estudo realizado com o alcaloide pirrolizidínico N-óxido de integerimina, isolado da planta *Senecio brasiliensis*, além de induzir toxicidade materna, demonstrou alteração no curso do tempo de desenvolvimento de vários parâmetros de maturação somático (abertura do pavilhão auricular, aparecimento de pelos epidérmicos, abertura do olho e erupção dos incisivos), quando administrado durante os períodos de organogênese e fetal (SANDINI et al., 2014).

Ainda em relação ao desenvolvimento físico, houve atraso apenas na erupção dos dentes incisivos inferiores. Resultado semelhante ao obtido por Campos (2012), que ao avaliar o desenvolvimento físico da prole de ratas tratadas com o extrato de Valeriana (*Valeriana officinalis*) durante a gestação, planta que também tem seu uso não recomendado na gravidez, observou atraso no desenvolvimento somático dos descendentes, inclusive na erupção do incisivo inferior, porém, apesar do atraso nos sinais de desenvolvimento físico, nenhum dos animais na vida adulta apresentou alterações morfológicas relacionadas aos indicadores físicos, o que, segundo o autor, permitiu inferir que a exposição materna ao extrato não ocasionou lesões permanentes no desenvolvimento destes animais.

O resultado referente à evolução do comprimento da cauda da prole do grupo experimental mostrou evolução regular ao longo do período analisado (1º, 7º, 14 e 21º dia pós-natal), em que os animais do grupo tratado com EAPN apresentaram maior comprimento caudal, com diferença estatisticamente significativa no 1º e 21º dia pós-natal, quando comparado ao GC. Em relação à evolução do comprimento naso-anal, os animais do grupo tratado com EAPN apresentaram maior comprimento apenas no 1º dia pós-natal, exibindo evolução regular durante toda a lactação, sem apresentar retardo no desenvolvimento deste parâmetro. Esses resultados diferem com os encontrados por Dey et al. (2017) que ao avaliarem o efeito do extrato aquoso de Chá preto (*Camellia sinensis*), também preparado por infusão, administrado nas doses de 50 e 100 mg/Kg de peso corpóreo, observaram interferência no desenvolvimento da prole, demonstrado pela diminuição significativa ($P < 0,05$) do peso corporal, comprimento da cauda e comprimento craniosacral, de forma dose-dependente, a partir do 10º dia de vida e, assim permanecendo durante todo o período de lactação, em todos os grupos tratados. Semelhantemente, a administração do extrato de

Camellia sinensis ocorreu ao longo dos períodos pré-natal (21 dias) e pós-natal (21 dias) (DEY et al., 2018).

Diante de tais resultados, esta pesquisa evidencia pela primeira vez que a administração do extrato de *P. niruri* na dose de 150 mg/Kg durante o período de gestação e lactação promoveu a aceleração de parâmetros de crescimento físico e desenvolvimento somático. Em contrapartida, a administração do extrato às progenitoras provocou toxicidade materna sistêmica, que foi demonstrado através da ocorrência de óbito, alterações físicas e comportamentais (sinais clínicos), como: sangramentos nasal e vaginal, frêmito vocal, tremor e agressividade. Sendo necessário a realização de estudos fitoquímicos com o extrato, a fim de identificar e isolar os fitoconstituintes responsáveis pelos efeitos demonstrados. Para se avaliar de forma confirmatória e compreender o impacto toxicológico causado pela administração do extrato, é importante a realização de análises bioquímicas e estudos histológicos com as progenitoras, permitindo identificar possíveis órgãos afetados. E apesar da aceleração dos parâmetros de crescimento físico e desenvolvimento somático, uma análise histológica faz-se necessário para uma correta e completa avaliação dos efeitos de *P. niruri* sobre a prole. Por fim, avaliar o impacto sobre a maturação do Sistema Nervoso Central na fase inicial da vida, bem como possíveis alterações neurocomportamentais nas progenitoras e na vida adulta da prole, merecem ainda serem avaliadas para uma melhor compreensão dos efeitos da administração do extrato de *P. niruri*. Tal fato permite ainda estabelecer relação com possíveis efeitos terapêuticos sobre a ansiedade, efeito este mencionado pela medicina popular, porém de comprovação inexistente.

7. CONCLUSÕES

Este estudo foi o primeiro a investigar os efeitos da administração do extrato de *P. niruri* durante o período de gestação e lactação, na dose de 150 mg/Kg, sobre a saúde materna e da prole. Os resultados evidenciaram toxicidade sistêmica do extrato no organismo das progenitoras, por outro lado, a administração de *P. niruri* durante esses períodos não foi capaz de comprometer o desenvolvimento físico e somático na prole, e sim o oposto, promoveu maior crescimento físico e aceleração de parâmetros de maturação somática. Embora esses resultados sejam promissores, estudos adicionais devem ser realizados, a fim de se conhecer seu impacto sobre o Sistema Nervoso Central, bem como seus efeitos sobre diversos órgãos, tanto na prole, quanto nas progenitoras.

REFERÊNCIAS

- ABDULLA, M. A.; AHMED, K. A.; AL-BAYATY, F. H.; MASOOD, Y. Gastroprotective effect of *Phyllanthus niruri* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 4, n. 5, p. 226-230, 2010.
- ARRUDA, J. T.; APPROBATO, F. C.; MAIA, M. C. S.; SILVA, T. M.; APPROBATO, M. S. Efeito do extrato aquoso de camomila (*Chamomilla recutita* L.) na prenhez de ratas e no desenvolvimento dos filhotes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.15, n.1, p. 66-71, 2013.
- AUROUX, M. Behavioral teratogenesis: an extension to the teratogenesis of functions. **Biol Neonate**. v. 71, n. 3, p. 137-147, 1997.
- AZEVEDO, A. M.; ALONSO, N. B.; CABOCLO, L. O. S. F.; WESTPHAL, A. C.; SILVA, T. I.; MUSZAKAT, R. S. A.; GARZON, E.; SAKAMOTO, A. C.; YACUBIAN, E. M. T. O Uso da Medicina Alternativa e Complementar por Pacientes com Epilepsia: Risco ou Benefício? **J Epilepsy Clin Neurophysiol** 2004; v. 10, p. 201-204, 2004.
- BAKKE, L. A.; LEITE, R. S.; MARQUES, M. F. L.; BATISTA, L. M. Estudo comparativo sobre o conhecimento do uso de plantas abortivas entre alunas da área de saúde e da área de humanas da Universidade Federal da Paraíba. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 1, p. 24-31, 2008.
- BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 992-1000, 2010.
- BARROS, S. R. A. **Efeitos dos lipídeos dietéticos sobre a utilização proteica**. 1999. 135f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.
- BEBER, A. P.; ROCHA, J. A. R. ***Phyllanthus niruri* (quebra-pedra): estudo do potencial gastroprotetor do extrato metanólico em diferentes modelos de úlcera em animais**. 2013. 47 f. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Vale do Itajaí. Centro de Ciências da Saúde. Santa Catarina, 2013.
- BEDRAN, J. N. **The use of drugs on pregnancy and lactation**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.212, 1988.
- BEZERRA, A. M. F.; BEZERR, K. K. S.; SOUSA, L. C. F. S.; SOUSA, J. S.; BORG, M. G. B. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade de mimoso no município de Paulista, Paraíba – Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 06-11, dez. 2012.
- BOLL, K. M.; BORTOLASCI, C. C.; ZAMINELLI, T.; VERÍSSIMO, L. F.; BACCHI, A. D.; HIGACHI, L.; BARBOSA, D. S.; MOREIRA, E. G. *Passiflora incarnata* treatment during gestation and lactation: toxicological and antioxidant evaluation in wistar dams. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 2, p. 353-359, 2014.

BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes – utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p. 12-20, 2008.

BORGES, L. V.; CARMO, J. C.; PETERS, V. M.; LAS CASAS, L.; GUERRA, M. O. A toxicidade do *Hypericum perforatum* administrado a ratas prenhes. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 51, n.4, p.206-208, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011. 126p.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010a. 852 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 10, de 09 de março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 10 de mar. 2010b. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em: 25 Mai. 2010b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. 2009. **MS elabora Relação de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/noticias-antiores-agencia-saude/3487->>. Acesso em: 07 Dez. 2016.

BRITO, A. S. **Manual de ensaio toxicológico *in vivo***. Campinas, Unicamp, 1994, p. 15-21.

BRITO, V. F. S.; DANTAS, I. C.; DANTAS, G. D. S. Plantas medicinais utilizadas pela comissão de mulheres na zona Rural no município de Lagoa Seca – PB. **BioFar, Revista de Biologia e Farmácia**, v. 3, n.1, p. 112-123, 2009.

BRENT, R. L.; GORDON, W. E.; BENNETT, W. E.; BECKMAN, D. A. Reproductive and teratogenic effects of electromagnetic fields. **Reproductive Toxicology**, v. 7, n. 6, p. 535-580, 1993.

CAMARGO, E. L. R. A. **Estudo de neuroteratologia em ratos: efeitos da restrição alimentar e da monocrotalina**. 2010. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada. São Paulo, 2010.

CAMPOS, M. L. **Desenvolvimento físico e neurocomportamental de filhotes após exposição materna à valeriana (*Valeriana officinalis*) durante a gestação em ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769)**. 2012. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. Juiz de Fora, 2012.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.

CASTRO, A. P.; MELLO, F. B.; MELLO, J. R. B. Avaliação toxicológica do *Ginkgo biloba* sobre a fertilidade e reprodução de ratos Wistar. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 3, p. 265-269, 2005.

COSTA-SILVA, J. H.; LYRA, M. M. A.; LIMA, C. R.; ARRUDA, V. M.; ARAÚJO, A. V.; RIBEIRO, A. R.; ARRUDA, A. C.; FRAGA, M. C. C. A.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. Estudo Toxicológico Reprodutivo da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) em Ratas Wistar. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 25, n. 3, p. 425-428, 2006.

DALLAQUA B.; SAITO, F.H.; RODRIGUES, T.; CALDERON, I. M.; RUDGE, M. V.; VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C. *Azadirachta indica* treatment on the congenital malformations of fetuses from rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 1109-1113, 2013.

DAMASCENO, D. C.; LEMONICA, I. P. Embryotoxicity and anti-implantation effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in pregnant rats within preimplantation period. **Brazilian Journal of Toxicology**, v. 12, p. 47-54, 1999.

DA SILVA, J. N.; DANTAS, I. C.; CHAVES, T. P. Plantas utilizadas como abortivas no município de Bom Jardim – PE. **BioFar, Revista de Biologia e Farmácia**, v. 4, n. 1, 2010.

DANTAS, I. C.; FELISSIMO, D. C.; DANTAS, G. D. S. Plantas medicinais. In: DANTAS, I. C. **O raizeiro**. 1ª ed. João Pessoa–PB. Editora: EDUEPB, 2008. 539 p.

DENT, M.P.; WOLTERBEEK, A. P.; RUSSELL, P. J.; BRADFORD, R. Safety profile of *Hoodia gordonii* extract: mouse prenatal developmental toxicity study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 1, p. 520-525, 2012.

DEY, A.; GOMES, A.; DASGUPTA, S. C. Black Tea (*Camellia sinensis*) Extract induced prenatal and postnatal toxicity in experimental albino rats. **Pharmacognosy magazine**, v. 13, n. 4, p. 769-774, 2018.

DISSABANDARA, D. L. O.; CHANDRASEKARA, M. S. Effects of prenatal ginger rhizome extract treatment on pregnancy outcome and postnatal development of Sprague Dawley rats. **Ceylon Journal of Medical Science**, v. 50, n. 1, 2008.

ELMAZOU DY, R. H.; ATTIA, A. A. Ginger causes subfertility and abortifacient in mice by targeting both estrous cycle and blastocyst implantation without teratogenesis. **Phytotherapy**, 2018. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.01.021.

FARIA, D. E. P.; BORGES, L. V.; PETERS, V. M.; REIS, J. E. P.; RIBEIRO, L. C.; SÁ, R. C. S.; GUERRA, M. O. Postnatal Development of Pups from Nursing Rats treated with *Ginkgo biloba*. **Phytotherapy research**, v. 22, p. 185–189, 2008.

FARIA, D. E. P.; RIBEIRO, L. C.; REIS, J. E. P.; PETERS, V. M.; GUERRA, M. O.

Desenvolvimento Físico, Neuromotor e Sensitivo de Crias de Ratas Wistar do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução: Universidade Federal de Juiz de Fora. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, UFJF, v. 24, p.55-63, 2005.

FERREIRA, M. D. S.; LIMA, D. C. P.; MOURA, E. R.; MULLER, J. B. B. S.; CARDOSO FILHO, F. C.; SILVA, S. M. M. S.; BATISTA, M. C. S. Avaliação da toxicidade crônica e gestacional do extrato etanólico de *Buchenavia* sp., em ratas Wistar. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 4, p. 319-326, 2013.

FRITZ, H.; GIESE, K. Evaluation of the Teratogenic Potential of Chemicals in the Rat. **Pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 1-28, 1990.

GERENUTTI, M.; SPINOSA, H. S.; BERNARDI, M. M. Effects of bracken fern (*Pteridium aquilinum* L Kuhn) feeding during the development of female rats and their offspring. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 307-310. 1992.

GRANDI, T. S. M. **Tratado das plantas medicinais: mineiras, nativas e cultivadas**. 1º ed. Belo Horizonte: Adaequatio Estúdio, 2014. 1204p.

HASSARAJANI, S. A.; MULCHANDANI, N. B. Securinine type of alkaloids from *Phyllanthus niruri*. **Indian Journal of Chemistry Section B Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 801-803, 1990.

HOATH, S. B. Treatment of the neonatal rat with epidermal growth factor: differences in time and organ response. **Pediatric Research**, v. 20, p. 468-472, 1986.

HOLLENBACH, C. B.; BORTOLINI, C. E.; BATISTA, J. M.; HOLLENBACH, E. B.; SCHUCH, T. L.; PACHECO, M. H.; MELLO, F. B.; MELLO, J. R. Desenvolvimento pós-natal e potencial teratogênico da prole de ratos Wistar no estudo da toxicidade reprodutiva de duas preparações fitoterápicas contendo soja *Glycine max* (L.) Merr. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 845-852, 2010.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cuité – Paraíba**. Disponível em <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=250510&search=paraibalcuitelinfograficos:-informacoes-completas>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

IIZUKA, T.; NAGAI, M.; TANIGUCHI, A.; MORIYAMA, H.; HOSHI, K. Inhibitory Effects of Methyl Brevifolincarboxylate Isolated from *Phyllanthus niruri* L. on Platelet Aggregation. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 2, p. 382-384, 2007.

IRANLOYE, B.; OYEUSI, K.; ALADA, A. Effect Of Aqueous Extract Of *Phyllanthus Amarus* Leaves On Implantation And Pregnancy In Rats. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 25, p. 63-66, 2010.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull (Lange)**. 2ª ed. Porto Alegre: Mc Graw-Hill Artmed, 2012.

KOTOKY, R.; KANJILAL, P. B.; BORDOLOI, M. 2-Methylhexadec-2-ene from *Phyllanthus niruri* Linn. **Indian Journal of Chemistry**, v. 44, p. 434-435, 2005.

- LAURA, A. L. C. **Efeitos da ingestão de extrato hidroacetônico de *Maytenus ilicifolia* e hidroetanólico de *Archyrocline alata* em ratas prenhes e seus fetos.** 2009. 196 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Mato Grosso do Sul, 2009.
- LEMONICA, I. P.; ALVARENGA, C. M. Abortive and teratogenic effect of *Acanthospermum hispidum* DC. and *Cajanus cajan* (L.) Millps. in pregnant rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 43, p. 39-44, 1994.
- LEMONICA, I. P. Toxicologia da reprodução. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 103-113, 2008.
- LIMA, C. S. **Estudo da toxicidade não clínico em ratos submetidos ao tratamento com óleosresina de *Copaifera duckei* dwyer (subcrônico e reprodutivo).** 2014. 226f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Tropical) - Universidade Federal do Amapá. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical. Macapá, Amapá, 2014.
- LOPES, G. F. G.; PANTOJA, S. C. S. Levantamento das espécies de plantas medicinais utilizadas pela população de Santa Cruz – Rio de Janeiro-RJ. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 16, n. 16, p. 62–80, 2013.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.
- LYRA, M. M. A. **Avaliação toxicológica reprodutiva do fitoterápico Sanativo®.** 2007. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade federal do Pernambuco. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2007.
- MARTINAZZO, A. P.; MARTINS, T. Plantas medicinais utilizadas pela população de Cascavel/PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 8, n. 1, p. 3-5, 2004.
- MARTINS, E. R.; LIMA, L. R. Sinopse do gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) do Estado de São Paulo. **Hoehnea**, v. 38, n. 1, p. 123-133, 2011.
- MELLO F. B.; JACOBUS, D.; CARVALHO, K.; MELLO, J. R. B. Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on general reproductive performance and teratology in rats. **Toxicon**, v. 45, p. 459-466, 2005.
- MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 11, p. 21-35, 2001.
- MESQUITA, M. A. Efeitos do álcool no recém-nascido. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo, v. 8, n. 3, p. 368-375, 2010.
- NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do

gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n.2, p. 145-150, 2008.

NASCIMENTO, J. E. **Estudo comparativo de três espécies de *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) conhecidas por quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn. E *Phyllanthus tenellus* Roxb.)**. 2008. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade federal do Pernambuco. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2008.

OLIVEIRA, C. D. R.; MOREIRA, C. Q.; DE SÁ, L. R. M.; SPINOSA, H. S.; YONAMINE, M. Maternal and developmental toxicity of ayahuasca in Wistar rats. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 89, n. 3, p. 207-212, 2010.

OLIVEIRA, E. R.; MENINI NETO, L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte – MG. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 311-320, 2012.

ØSTENSEN, M.; KHAMASHTA, M.; LOCKSHIN, M.; PARKE, A.; BRUCATO, A.; CARP, H.; DORIA, A.; RAI, R.; MERONI, P.; CETIN, I.; DERKSEN, R.; BRANCH, W.; MOTTA, M.; GORDON, C.; RUIZ-IRASTORZA, G.; SPINILLO, A. FRIEDMAN, D.; CIMAZ, R.; CZEIZEL, A.; PIETTE, J. C.; CERVERA, R.; LEVY, R. A.; CLEMENTI, M.; CAROLIS, S.; PETRI, M.; SHOENFELD, Y.; FADEN, D.; VALESINI, D.; TINCANI, A. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. **Arthritis Research & Therapy**, v. 8, n. 3, p.209-27, 2006.

PAITHANKAR, V. V.; RAUT, K. S.; CHARDE, R. M.; VYAS, J. V. *Phyllanthus Niruri*: A magic Herb. **Research in Pharmacy**, v. 1, n. 4, p.1-9, 2011.

PEREIRA, D. E. **Influência da castanha de caju sobre a ontogenia reflexa e somática da prole de ratas tratadas durante a gestação e lactação**. 2014. 55f. Monografia (Bacharelado em Nutrição) – Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Educação e Saúde. Cuité, 2014.

PINTO, M. V.; MELLO, F. B.; MELLO, J. R. B. Avaliação Toxicológica de Preparação Fitoterápica Contendo *Piper methysticum* Forst Piperaceae (Kava Kava®) Sobre o Desenvolvimento Pré-Natal em Ratos Wistar. **Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense)**. v. 26, n. 6, p. 818-824, 2007.

QUEIROZ, F. M.; MATIAS, K. W. O.; CUNHA, M. M. F.; SCHWARZ, A. Evaluation of (anti)genotoxic activities of *Phyllanthus niruri* L. in rat bone marrow using the micronucleus test. **Pharmaceutical Sciences** v. 49, n. 1, p. 135-148. 2013.

RAZA, M.; AL-SHABANAH, O. A.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-MAJED, A. A. Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. **Scientia Pharmaceutica**, v. 70, n. 2, p. 135-145, 2002.

ROCHA, A. O. B.; PITA, J. C. L.; OLIVEIRA, K. M.; MOTA, C. A. X.; ESTEVAM, E. C.; VIANA, W. P.; SÁ, R. C.S.; DINIZ, M. F. F. M. Toxicological effect of hydroalcoholic

extract of *Pradosia huberi* Ducke in Wistar rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, p. 371–378. 2012.

ROGERS, J. M.; KAVLOCK, R. J. Toxicologia do Desenvolvimento. In: KLAASEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Cassarett e Doull (Lange)**. 2ª ed. Porto Alegre: Mc Graw-Hill Artmed, p. 137-148, 2012.

ROMAN, S. S.; DAMBROS, A.; ROSSET, A.; PISTORE, M.; SCHIMD, A. R.; CASSIAN, R. L. Toxicidade maternal e reprodutiva de extrato hidroalcoólico de *Sonchus oleraceus* L. em ratos Wistar. **Perspectiva**. v. 38, n. 141, p. 69-77, 2014.

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. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.3, p.359-366, 2011.

SACHETTI, C. G.; CARVALHO, R. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; LAMEIRA, O. A.; CALDAS, E. D. Developmental toxicity of copaiba tree (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae) oleoresin in rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 1080–1085, 2011.

SANDINI, T. M.; UDO, M. S. B.; REIS-SILVA, T. M.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. D. S. Prenatal exposure to integerrimine N-oxide impaired the maternal care and the physical and behavioral development of offspring rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 36, n. 1. p. 53-63, 2014.

SANDINI, T. M.; UDO, M. S. B., SPINOSA, H. S. *Senecio brasiliensis* e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. **Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 83-92. 2013.

SANTOS, E. C. S.; ANTUNES, P. S.; SANTOS F. L. P.; ROCHA, A. O. B.; PITA, J. C. L. R.; XAVIER, A. L.; MACÊDO, C. L.; JACOB, K. C.; OLIVEIRA, N. A. MEDEIROS, A. A. N.; DINIZ, M. F. F. M.; SÁ, R. C. S. Assessment of *Pradosia huberi* effects on the reproductive system of male rats. **Experimental biology and Medicine**, v. 241, n. 5, p. 519-526, 2016.

SANTOS, E. C. S. **Investigação do potencial tóxico do extrato etanólico de *Krameria tomentosa* A. St. Hill sobre o sistema reprodutor de ratos e ratas e suas proles**. 2016. 182f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. João Pessoa, 2016

SCHWARZ, A. **Efeitos da exposição gestacional à fração aquosa da *Ipomoea carnea* no desenvolvimento físico e neurocomportamental da prole de ratos**. 2002. 219f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas. São Paulo, 2002.

SECCO, R.; CORDEIRO, I.; MARTINS, E. R.; ZAPPI, D. 2015 Phyllanthaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB24168>>. Acesso em: 08 Mai. 2017.

SHAKIL, N. A.; PANKAJ; KUMAR, J.; PANDEY, R. K.; SAXENA, D. B. Nematicidal prenylated flavanones from *Phyllanthus niruri*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 759-764, 2008.

SILVA, H. J.; MARINHO, S. M. O. C.; SILVA, A. E. T. M.; ALBUQUERQUE, C. G.; MORAES, S. R. A.; CASTRO, R. M. Protocol of Mensuration to Avaliation of Indicators of Somatic Development of Wistar Rats. **International Journal of Morphology**, v. 23, n.3, p. 227-230, 2005.

SILVA, L. R. **Avaliação do desenvolvimento neonatal e do processo de memória dos filhotes de ratos Wistar expostas ao extrato seco de *Hypericum perforatum* L. durante a gestação.** 2015. 63f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Programa de Pós-Graduação em Saúde. Juiz de fora, 2015.

SILVA, M. J.; SALES, M. F. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae – Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco – Brasil. **Rodriguésia**, v. 55, n. 82, p. 101-126, 2004.

SILVEIRA, P. F.; BANDERIA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

SMART, J. L.; SILVA, V. A.; MALHEIROS, L. R.; PAUMGARTTEN, F. J.; MASSEY, R. F. Epidermal growth factor advances some aspects of development but retards others in both rats and hamsters. **Journal of Development Physiology**, v. 11, p. 153–158, 1989.

SUBEKI, S.; MATSUURA, H.; TAKAHASHI, K.; YAMASAKI, M.; YAMATO, O.; MAEDE, Y.; KATAKURA, K.; KOBAYASHI, S.; TRIMURNINGSIH, T.; CHAIRUL, C.; YOSHIHARA, T. Anti-babesial and anti-plasmodial compounds from *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 4, p. 537-539, 2005.

TEO, S.; STIRLING, D.; THOMAS, S.; HOBERMAN, A.; KIORPES, A.; KHETANI, V. A 90 day oral gavage toxicity study of D-methylphenidate and D, Lmethylphenidate in Sprague dawley rats. **Toxicology**, v. 179, p. 183-96, 2002.

TONA, L.; MESIA, K.; NGIMBI, N. P.; CHRIMWAMI, B.; OKOND'AHOKA; CIMANGA, K.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. In-vivo antimalarial activity of *Cassia occidentalis* *Morinda morindoides* and *Phyllanthus niruri*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 95, n. 1, p. 47-57, 2001.

TUROLA, M. S. R; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

VASCONCELOS, R. G.; MOURA-MATTARAIA, V. G.; NOGUEIRA, M. I.; BERNARDI, M. M.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Efeitos pré-natais da sertralina sobre o desenvolvimento e crescimento somáticos de ratos neonatos. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, RESBCAL**, v. 1, n. 1, p. 41-53, 2012.