

Efeito do extrato de *Plectranthus barbatus* (Andr.) Benth no desempenho reprodutivo de *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769)

Thelma Duarte Delgado Brandolt^{1*}
Cinthia Cardoso Rodrigues¹
Sandro Márcio Nunes Ferrão²
Gisélda Maria Baquini da Silva³

¹Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras (FAFIUR), Curso de Ciências Biológicas

²Hospital Veterinário da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia (FZVA)
Biotério e Laboratório de Farmacologia

³Hospital Veterinário da FZVA, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução
PUCRS, Campus Uruguaiiana, BR 472 Km 7, Caixa Postal 249
CEP 97500-970, Uruguaiiana – RS

*Autora para Correspondência
thelmaduarte@bol.com.br

Submetido em 10/08/2006
Aceito para publicação em 12/03/2007

Resumo

A suposta utilização do extrato de *Plectranthus barbatus* para fins abortivos motivou esta investigação sobre a ocorrência dos possíveis efeitos tóxicos do Falso-boldo na viabilidade dos embriões e da prole de ratas *Wistar*. O experimento contou com vinte e sete fêmeas e nove machos, divididos em três grupos. Os chás foram preparados pelo método de infusão, utilizando-se folhas de plantas adultas obtidas em quintais residenciais. A partir do primeiro dia de acasalamento os animais foram submetidos a diferentes tratamentos: o (T1) recebeu água, o (T2) recebeu a dose de chá considerada coloquial e o (T3) recebeu uma dose 200% maior. Para avaliar a qualidade e verificar o estágio de desenvolvimento embrionário, no quarto dia de acasalamento, seis fêmeas de cada grupo foram submetidas a uma laparotomia abdominal mediana para que se procedesse a um lavado uterino que, depois de coletado, foi submetido a análise laboratorial. Ao final da gestação, os filhotes resultantes das fêmeas que não sofreram intervenção cirúrgica foram analisados cinco dias após seu nascimento. Os resultados não demonstraram interferência no desenvolvimento embrionário de nenhum dos grupos. As proles dos diferentes tratamentos apresentaram-se dentro dos padrões normais em relação ao grupo controle. Anomalias congênitas não foram constatadas.

Unitermos: falso-boldo, embriões, fetos, toxicidade, gestação

Abstract

Effect of the extract of the *Plectranthus barbatus* (Andr.) Benth in the reproductive performance of *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769). The supposed use of the extract from *Plectranthus barbatus* for abortive purposes motivated this investigation about the possible toxic effects of 'False-boldo' on the embryos and on the offspring of female *Wistar* rats. Twenty-seven females and nine males, divided into three groups, were used in the experiment. The teas were prepared following the method of infusion, using the leaves of plants fully

grown, gathered in residencial areas. After the first day of mating, the animals were submitted to different treatments: (T1) received water, (T2) received the dose of tea considered to be colloquial, and (T3) received a 200% higher dose. To evaluate the quality and to verify the stage of embryonic development, on the fourth day of mating, six females from each group were laparotomized (median abdominal laparotomy) in order to perform a uterine lavage, and the collected material was submitted to laboratorial analysis. The offspring resulting from the female rats that did not go through surgery were analyzed five days after their birth. The results did not show any interference with the embryonic development of any group. The offspring of the animals submitted to different treatments presented a normal pattern when compared to the control group. Congenital abnormalities were not observed.

Key words: 'False-boldo', embryos, fetuses, toxicity, gestation

Introdução

O uso de plantas medicinais pela população tem sido muito significativo nos últimos tempos. Segundo dados de 1995, da Organização Mundial de Saúde, cerca de 80% da população mundial fez uso de algum tipo de erva na busca do alívio de uma sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total, pelo menos 30% deuse por indicação médica (Martins et al., 1995).

As plantas medicinais cuja eficiência terapêutica e segurança quanto ao uso foram previamente avaliadas e comprovadas estão cientificamente aprovadas a serem utilizadas pela população nas suas necessidades básicas de saúde, em função de sua facilidade de acesso, baixo custo e compatibilidade cultural com as tradições populares (Martins et al., 1995).

A realização de estudos que resgatem e preservem a cultura popular, evitando seu uso indiscriminado e estimulando a utilização correta das plantas medicinais é de extrema importância, uma vez que o conhecimento popular vem sofrendo grandes alterações (Galvani e Barreneche, 1994).

A espécie *Plectranthus barbatus*, popularmente conhecida como Falso-boldo, pertence ao Filo *Angiosperma*, Classe *Magnoliatae*, Ordem *Lamiales*, Família *Lamiaceae* (Gemtchújnicov, 1976). Trata-se de um uma planta perene; de aroma característico; com ramos de secção quadrangular; folhas opostas, ovado-oblongas, pilosas; flores pentâmeras, azuis a violáceas, reunidas em ráculos (Martins et al., 1995). Constitui uma das plantas mais citadas em levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais do Brasil. É uma espécie provavelmente originária da África, amplamente cultivada em

todo o País (Carriconde et al., 1996 apud Costa e Nascimento, 2003).

Martins et al. (1995) atribuem à espécie a utilização como tônico, digestivo, hipossecretor gástrico (para azia e dispepsia), carminativo, para afecções do fígado e ressaca alcoólica. Costa e Nascimento (2003) citam a propriedade anti-dispéptica atribuída à espécie. Conforme Suryanarayanan et al (1998), (apud Coelho Netto e Assis, 2001), *P. barbatus* é um eficiente analgésico, anti-hipertensivo e anti-diarréico e constitui a única fonte conhecida de *forskolin*, uma importante substância utilizada no tratamento de glaucomas, cardiopatias e asma.

Segundo Bhat et al. (1979), Hersey et al. (1983) e Mukherjee et al. (2000) (apud Lukhoba et al., 2006), o diterpeno *forskolin* leva à ativação da enzima adenil ciclase e pode estimular a secreção gástrica, o que poderia explicar porque extratos da planta são comumente utilizados para o tratamento de distúrbios digestivos. Todavia, a Resolução nº 1757 de 18 de fevereiro de 2002 (Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro, 2002) contra-indica o uso do Falso-boldo durante período gestacional, baseando-se em Almeida e Lemonica (2000). Alvarenga et al. (dados não publicados) citam relatos populares sugerindo a utilização de extratos de plantas dessa espécie na interrupção da gestação. Costa Neto et al. (2005), em estudo sobre a utilização de plantas medicinais relacionadas a eventos do ciclo reprodutivo feminino, verificaram indicações populares de *P. barbatus* para cólicas e para desencadear a menstruação. No entanto, poucos estudos foram previamente realizados para avaliar a toxicidade do Falso-boldo durante o período gestacional de ratas *Wistar*.

Este experimento foi realizado com base nos parâmetros reprodutivos de *Rattus norvegicus*, que favorecem grandemente sua utilização em estudos relacionados à reprodução. Seu período de gestação é de aproximadamente 21 dias (Merusse et al., 1996). Em razão da curta duração do seu ciclo estral, que varia entre 4 e 5 dias, ratas constituem um bom modelo para o estudo das alterações que ocorrem durante o ciclo reprodutivo (Marcondes et al., 2002).

O propósito desta pesquisa foi investigar a ocorrência dos possíveis efeitos tóxicos do seu extrato na viabilidade dos embriões e da prole de ratas *Wistar*, através da análise da qualidade e do estágio de desenvolvimento embrionário, da possível ocorrência de abortamento e de deformidades nas proles e da quantificação dos filhotes obtidos das ratas submetidas à hidratação com diferentes concentrações de chá de Falso-boldo, visando ampliar os dados referentes à utilização desta planta durante o período gestacional.

Materiais e Métodos

A prole do modelo experimental resultou do cruzamento de *Rattus norvegicus* oriundos do Biotério da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – Campus Uruguaiana.

Os chás foram preparados pelo método de infusão, administrados oralmente e *ad libitum* aos animais através de bebedouros do tipo garrafa e substituídos uma vez a cada três dias, quando também eram realizadas as trocas de camas. As folhas utilizadas para preparação do infuso foram obtidas de plantas adultas, em quintais residenciais que possuíam a espécie vegetal em questão.

Foram utilizados vinte e sete fêmeas e nove machos que, divididos em três grupos, foram tratados com diferentes doses do extrato a partir do primeiro dia de acasalamento: o T1 recebeu água (grupo controle), o T2 recebeu a dose considerada coloquial (4 folhas da espécie para a capacidade do bebedouro, equivalendo a aproximadamente 9,8g de peso fresco para cada 500mL de água, correspondendo em média a 22mg/kg/dia) e o T3 recebeu uma dose 200% maior (12 folhas da espécie para a capacidade do bebedouro, equivalendo a aproximadamente 28,8g de peso fresco para cada 500mL de

água, correspondendo em média a 66mg/kg/dia). Em cada um desses tratamentos foram utilizados nove fêmeas e três machos durante o período de acasalamento. Utilizou-se a proporção de três fêmeas, pesando em média 200g cada uma, para cada macho, pesando em média 300g cada um.

No quarto dia de contato com os machos, seis fêmeas de cada tratamento foram separadas dos machos e submetidas à cirurgia no Laboratório de Farmacologia da PUCRS, mediante indução anestésica com halotano que, segundo Fialho (1989) possibilita o controle da profundidade da anestesia, além de promover uma rápida indução e recuperação em pequenos animais.

Foi realizada, posteriormente, a anti-sepsia da linha mediana ventral e procedeu-se a laparotomia abdominal mediana a partir da exposição dos cornos uterinos (Figura 1). Em cada corno uterino houve uma infiltração de 0,3mL de solução fisiológica (NaCl) a 0,45%, via seringa de 1mL com diâmetro de espessura da cânula de 13x0,45 [26 G] (Figura 1). Na seqüência, o lavado foi recolhido e a parede abdominal suturada.



FIGURA 1: Infiltração de solução fisiológica nos cornos uterinos expostos de uma rata *Wistar*.

Os embriões coletados foram analisados em relação à qualidade e estágio de desenvolvimento embrionário com auxílio de um microscópio óptico no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução. Para isto, foram seguidas as normas da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões - IETS (1998) apud Gonsalves et

al. (2002) que propõe critérios de classificação conforme as características morfológicas apresentadas pelo embrião. O método utilizado para retirada dos embriões foi adaptado e padronizado pelos técnicos que o procederam, tendo sido considerado o mais adequado para alcançar os objetivos da pesquisa, com respeito à espécie em questão.

Em relação ao estágio de desenvolvimento, os embriões foram classificados e identificados numericamente de 1 a 4, representando nos resultados:

1) Mórula Inicial

- Início da coesão intercelular;
- Compactação embrionária inicial.

2) Mórula

- Coesão celular intensificada;
- Massa celular compacta.

3) Blastocisto inicial

- Início da formação da blastocele;

4) Blastocisto expandido

- Aumento da blastocele e proliferação dos blastômeros;
- Aumento do diâmetro embrionário;
- Diminuição do espaço perivitelino.

Em relação à qualidade, os embriões também foram classificados e identificados numericamente de 1 a 4, representando nos resultados:

1) Excelente ou Bom

- Estágio de desenvolvimento correspondente ao esperado;
- Massa embrionária simétrica e esférica com blastômeros individuais que são uniformes em tamanho, cor e densidade;
- Forma regular, sendo que a zona pelúcida não deve apresentar superfície côncava ou plana, devendo ser lisa, preferencialmente intacta;
- Células extrudadas da massa celular do embrião compreendem menos de 15% do material celular total.

2) Regular

- Estágio de desenvolvimento embrionário correspondente ao esperado;
- Forma regular, zona pelúcida intacta ou não, irregularidades moderadas na forma geral da massa embrionária ou no tamanho, cor e densidade das células individuais;
- Células extrudadas da massa celular do embrião compreendem mais de 15% do material celular total;
- Pelo menos 50% das células compõe uma massa embrionária viável, intacta.

3) Pobre

- Estágio de desenvolvimento não correspondente com o esperado;
- Irregularidades maiores na forma geral da massa embrionária ou no tamanho, cor e densidade das células individuais;
- Menos de 75% das células degeneradas;
- Pelo menos 25% das células compõe uma massa embrionária viável, intacta.

4) Morto ou Degenerado

- Estágio de desenvolvimento não correspondente ao esperado, embrião em degeneração;
- Massa embrionária de menos de 25% de todo material celular presente no interior da zona pelúcida;
- Oócitos ou estruturas unicelulares degeneradas.

Todas as fêmeas utilizadas no experimento continuaram a receber o infuso durante o período gestacional. Os filhotes resultantes das três fêmeas de cada tratamento, que não sofreram intervenção cirúrgica, foram analisados quanto ao seu número, peso médio, tamanho médio e anormalidades macroscópicas cinco dias após o seu nascimento, visando evitar o estresse das fêmeas, ocasionado pela manipulação no período que precede o parto, passível de induzir ao canibalismo materno. Para a verificação de possíveis anomalias, foi realizada uma análise minuciosa quanto à morfologia dos olhos, boca,

implantação das orelhas, conformação craniana, membros anteriores e posteriores, cauda e orifício anal (Calliari-Martin et al., 2001). Os embriões e filhotes provenientes das ratas que sofreram intervenção cirúrgica também foram quantificados, mensurados quanto ao seu peso e tamanho e verificados quanto à sua morfologia em uma análise complementar (Tabelas 1 e 2).

Os resultados foram analisados através de um delineamento inteiramente casualizado. Utilizando-se o programa SAS (2001), foi realizada uma análise de variância de uma via (ANOVA). Para a comparação das médias foi utilizado o Teste de Tukey, sendo consideradas significativas diferenças ao nível de $P < 0,05$.

TABELA 1: Resultados da análise de embriões e fetos oriundos de ratas *Wistar* submetidas à tratamentos com diferentes concentrações de *P. barbatus* (T 2 = 4 folhas e T 3 = 12 folhas), em comparação com o grupo controle (água).

Tratamentos	T 1	T 2	T 3
Número de Fêmeas	9	9	9
Fêmeas Operadas	6	6	6
<i>Análise Embrionária*</i>			
Embriões Encontrados	11	8	9
Estágio Embrionário	2,3	1,2,3,4	2,3,4
Qualidade Embrionária	1, 2, 3	1, 2, 3	1, 2, 3
Fêmeas Não Operadas	3	3	3
<i>Análise da Prole**</i>			
Número Filhotes	4	7	15
Tamanho Médio	6cm	5,85cm	6,05cm
Peso Médio	10,2g	9,8g	9,4g
Anomalias	0	0	0

* Após 4 dias em contato com o macho. ** Após 5 dias do nascimento da prole.

TABELA 2: Número de embriões e filhotes provenientes de ratas *Wistar* submetidas à tratamentos com diferentes concentrações de *P. barbatus* (T 2= 4 folhas e T 3 = 12 folhas), em comparação com o grupo controle (água) após laparotomia abdominal mediana e lavado uterino.

Tratamentos	T 1	T 2	T 3
Número de Fêmeas	6	6	6
Embriões Coletados	11	8	9
Número Filhotes*	10**	22	0
Tamanho Médio	-	5,22cm	-
Peso Médio	-	6,79g	-
Anomalias	-	0	-

* Após 5 dias do nascimento da prole. ** Os 10 filhotes do grupo controle sofreram canibalismo antes de sua análise.

Resultados

Análise Embrionária

Foram encontrados embriões em diversos estágios de desenvolvimento, de mórula inicial a blastocisto. Conforme a análise estatística utilizada, o grupo T1 apresentou média de estágio de desenvolvimento de 2,36; o grupo T2 apresentou média de 2,1 e o grupo T3 apresentou média de 2,44; não havendo, contudo, diferença significativa entre os tratamentos. Para esta variável, a média geral entre todos os grupos foi de 2,28, indicando que as estruturas analisadas eram, em sua maioria, mórulas (Figura 2).

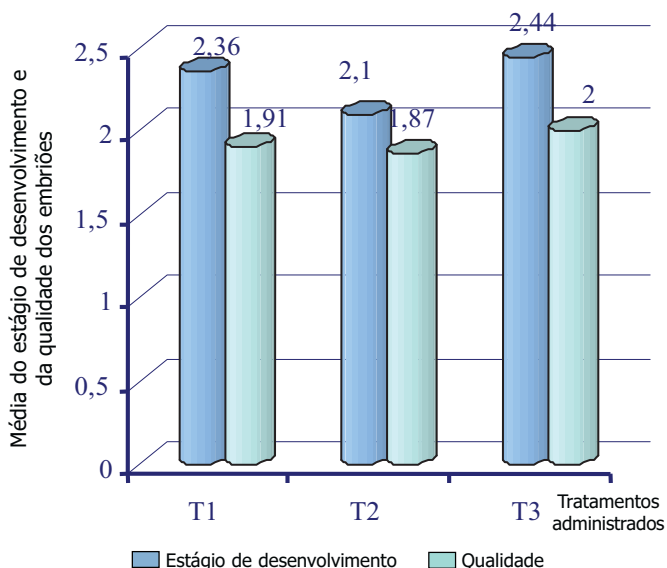


FIGURA 2: Médias do estágio de desenvolvimento e da qualidade dos embriões coletados através de um lavado nos cornos uterinos de ratas *Wistar* expostos por meio de uma laparotomia abdominal mediana, após tratamento com diferentes concentrações de *P. barbatus* (T2 e T3), em comparação com o grupo controle (T1).

Foram encontrados embriões com qualidades variando de excelente ou bom a morto ou degenerado. O grupo T1 apresentou média de qualidade de 1,91; o grupo T2 apresentou média de 1,87 e o grupo T3 apresentou média de 2, não havendo contudo, diferença significativa entre os tratamentos. Para esta variável, a média geral entre todos os grupos foi de 1,92, indicando que as estruturas analisadas eram, em sua maioria, boas ou regulares (Figura 2).

Análise da Prole

Fêmeas não-operadas

A prole resultante das fêmeas não-operadas foi analisada quanto à quantidade de filhotes, tamanho médio (Figura 3), peso médio (Figura 4) e anomalias congênitas.

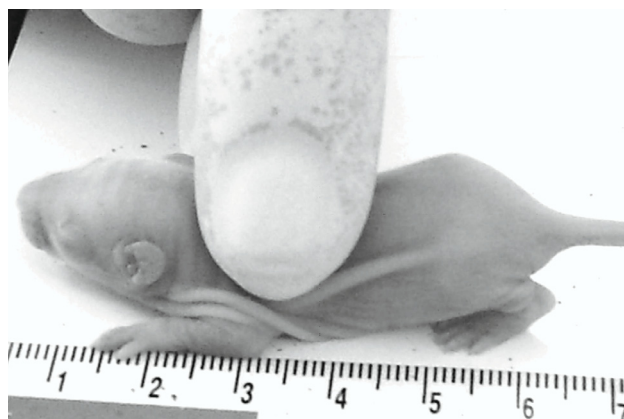


FIGURA 3: Análise do tamanho de um filhote proveniente de uma ninhada de uma rato *Wistar*.



FIGURA 4: Pesagem da prole de uma rato *Wistar*, cujo resultado foi dividido entre o número de filhotes da ninhada.

O grupo T1 apresentou média de 1,33 filhotes por fêmea; o grupo T2 apresentou média de 2,33 e o grupo T3 apresentou média de 5 filhotes por fêmea, não havendo contudo, diferença significativa entre os tratamentos. Para esta variável, a média geral entre todos os grupos foi de 2,88 filhotes por fêmea (Figura 5).

Os filhotes resultantes do grupo T1 apresentaram média de tamanho de 6cm; os filhotes do grupo T2 apre-

sentaram média de 5,85cm e os do grupo T3 de 6,05cm, não havendo contudo, diferença significativa entre os tratamentos. Para esta variável, a média geral entre todos os grupos foi de 5,98cm por filhote (Figura 5).

Os filhotes resultantes do grupo T1 apresentaram média de peso de 10,2g; os do grupo T2 de 9,8g e os do grupo T3 de 9,4g, não havendo, contudo, diferença significativa entre os tratamentos. Para esta variável, a média geral entre todos os grupos foi de 9,7g por filhote (Figura 5).

Não houve incidência de anomalias congênitas, nem a constatação de abortos em nenhum dos tratamentos.

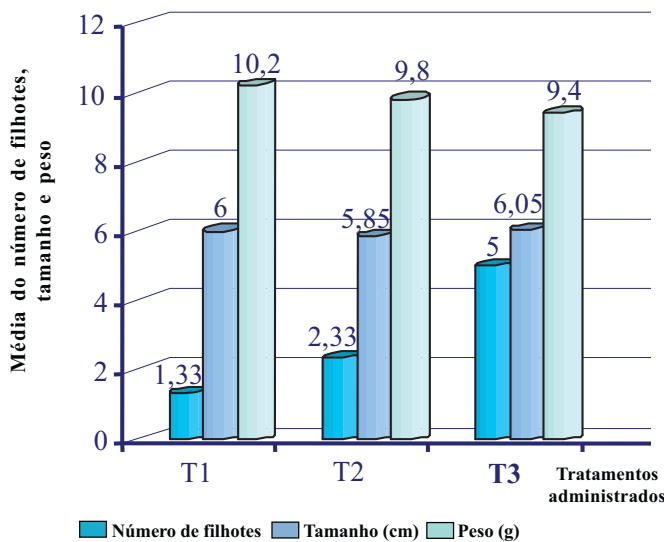


FIGURA 5: Efeito dos tratamentos sobre o número de filhotes, tamanho e peso da prole de ratas *Wistar*, após tratamento com diferentes concentrações de *P. barbatus* (T2 e T3), em comparação com o grupo controle (T1).

Análise da Prole

Fêmeas operadas

O grupo T1 apresentou 10 filhotes que não puderam ser analisados devido ao canibalismo materno. O grupo T2 apresentou 22 filhotes com tamanho médio de 5,22cm por filhote e peso médio de 6,79g por filhote. O grupo T3 não apresentou prole, inviabilizando esta análise (Figura 6). Não houve incidência de anomalias congênitas, nem a constatação de abortos em nenhum dos tratamentos.

Os resultados referentes à análise embrionária evidenciaram a ocorrência de diferentes estágios de de-

envolvimento em cada um dos tratamentos, provavelmente, devido aos distintos dias de acasalamento entre os animais, visto que não houve sincronização do ciclo estral.

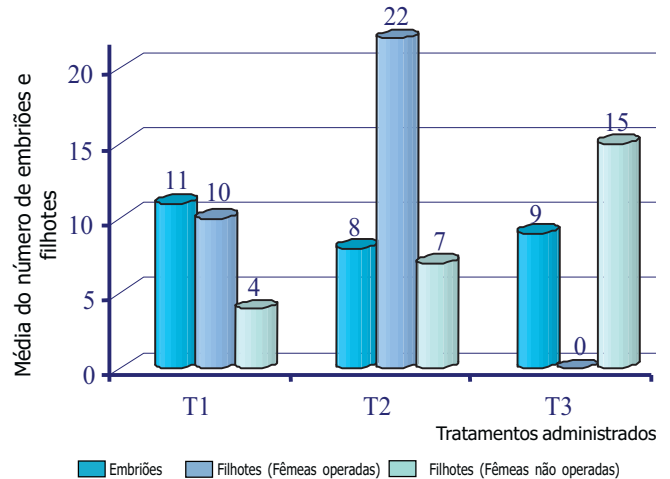


FIGURA 6: Quantidade de embriões e filhotes oriundos de ratas *Wistar*, operadas ou não, após submissão a tratamentos com diferentes concentrações de *P. barbatus* (T2 e T3), em comparação com o grupo controle (T1).

Os tratamentos 2 e 3 não resultaram em interferências na qualidade dos embriões quando comparados ao tratamento 1 (controle), o que nos permite estimar, segundo Palm e Brem (1993), que os embriões obtidos nos três tratamentos possuíam as mesmas possibilidades quanto ao seu desenvolvimento e posterior nascimento.

Em relação à análise das proles das fêmeas que não sofreram intervenção cirúrgica, a administração das diferentes concentrações do extrato de Falso-boldo não influenciou nas variáveis estabelecidas, uma vez que as médias do número de filhotes, de tamanho e de peso não diferiram quando comparadas ao grupo controle.

Verificou-se que a intervenção cirúrgica por si só não inviabilizou o desenvolvimento gestacional, embora possivelmente tenha influenciado no número de nascimentos, pois mesmo as fêmeas operadas apresentaram proles. Fêmeas não-operadas e operadas apresentaram tempo de gestação conforme o previsto.

Discussão

Estudos prévios com o intuito de avaliar a toxicidade do Falso-boldo durante a gestação de ratas *Wistar* são

escassos e, em sua maioria, enfocam fatores inerentes ao organismo materno e à funcionalidade placentária como possíveis determinantes de malformações, anomalias ou, até mesmo, da morte de conceptos. O presente estudo, no entanto, enfatiza a análise de uma ação direta no próprio organismo embrião/fetal, por também se tratar de um dos eventos capazes de causar alterações no desenvolvimento do nascituro.

Sabe-se que a exposição maternal a um extrato vegetal durante a gestação depende do método de obtenção do extrato, do período de exposição e da dose administrada, podendo causar diferentes efeitos no desenvolvimento embrionário e fetal (Almeida e Lemonica, 2000).

Almeida e Lemonica (2000) realizaram experimento utilizando extrato hidroalcoólico do Falso-boldo durante o período de pré-implantação (0 a 5 dias de gravidez) e durante o período da organogênese (6 a 15 dias de gravidez), aplicando concentrações 10, 20 e 40 vezes maiores do que as utilizadas na medicina popular, correspondentes a 220, 440 e 880mg/kg/dia, respectivamente. Alvarenga et al. (dados não publicados) também testaram a toxicidade do Falso-boldo através de um extrato hidroalcoólico, no entanto, administrado somente durante o período de pré-implantação e em concentração ainda mais elevada, sendo 20, 40 e 80 vezes maiores do que as indicadas para fins terapêuticos, correspondentes a 400, 800 e 1600mg/kg/dia respectivamente. No presente estudo, o extrato do Falso-boldo foi obtido pelo método de infusão e administrado durante todo o período gestacional em concentrações consideradas coloquiais e até 200% mais elevadas do que as frequentemente recomendadas, correspondentes a aproximadamente 22 mg/kg/dia e 66mg/kg/dia.

O grupo de ratas *Wistar* que recebeu durante os primeiros cinco dias de gestação a maior concentração administrada por Almeida e Lemonica (2000) demonstrou um efeito de anti-implantação que, segundo as autoras, pode estar relacionado com prováveis alterações morfológicas no embrião, as quais, no entanto, não foram relatadas em nosso estudo, uma vez que os embriões de ratas submetidas ou não a ingestão do extrato não diferiram significativamente no concernente a sua qualidade. Contudo, Alvarenga et al (dados não publica-

dos) verificaram, nas duas maiores doses testadas, retardo no desenvolvimento intra-uterino.

O período de pré-implantação em mamíferos, segundo Almeida e Lemonica (2000), tem sido considerado como um período de “tudo ou nada”, onde a exposição materna a agentes químicos, conforme a dose, pode tanto causar morte embrionária, como nenhuma interferência no desenvolvimento do embrião.

Paradoxalmente, estudos sobre a administração de diterpenóides isolados de *P. barbatus* demonstraram que estas substâncias, quando em alta concentração, podem relaxar o músculo liso, bem como exibir atividade espasmódica não específica no trato gastro-intestinal em várias espécies animais (Dubey et al., 1981). O princípio ativo principal para sua atividade relaxante e espasmódica parece ser a substância α -pineno (Camara et al., 2003). Estas constatações sugerem que um efeito relaxante poderia interferir no transporte do embrião rumo ao útero e, conseqüentemente, na sua implantação, quando extratos forem administrados em concentração elevada.

Além disso, segundo Gardner (1994), as folhas de *P. barbatus* são ricas em cristais de oxalato de cálcio, os quais podem provocar lesões nas mucosas, auxiliando na penetração de constituintes tóxicos de plantas quando em grande quantidade.

A exposição das ratas-mães aos tratamentos com o extrato não demonstrou interferir nos parâmetros reprodutivos maternos no estudo de Almeida e Lemonica (2000). Alvarenga et al (dados não publicados) verificaram, nas duas maiores concentrações testadas, sinais leves de intoxicação materna. Neste estudo, a análise dos parâmetros reprodutivos maternos não foi prioritariamente enfocada, no entanto, pôde-se perceber que esses animais não apresentaram características de toxicidade como alteração da pelagem, emagrecimento, mortes, redução do consumo de água e ração.

Uma evidência de que o peso corporal materno não reduziu de maneira significativa é a constatação de que o peso médio dos filhotes mostrou-se semelhante entre os diferentes tratamentos, visto que, segundo Khera (1984) a redução no peso corporal fetal pode ser causada por uma significativa redução do peso corporal materno. Do mesmo modo, nas observações de Alvarenga

et al (dados não publicados) o peso dos filhotes não variou de maneira expressiva entre animais provenientes de mães que ingeriram ou não o extrato de Falso-boldo. Almeida e Lemonica (2000) não consideraram o fator peso fetal em seu estudo.

Neste estudo, não houve incidência de anomalias congênitas visíveis em nenhum grupo amostral. No entanto, no experimento de Almeida e Lemonica (2000), o grupo que recebeu o tratamento de maior concentração aumentou consideravelmente a incidência de variações esqueléticas, caracterizadas pela redução nos centros de ossificação fetal, o que, segundo as autoras, pode significar um atraso no desenvolvimento.

Entre os resultados obtidos nesta pesquisa, não há indicações de que o extrato de *P. barbatus*, preparado pelo método de infusão e administrado *ad libitum* em intervalo de trocas de três em três dias, possa causar efeitos tóxicos no desempenho reprodutivo de ratas *Wistar*, quando administrado em doses consideradas coloquiais e/ou em doses até 200% maiores do que as indicadas para uso terapêutico em seres humanos. Sendo assim, nas concentrações utilizadas no presente estudo, equivalentes a aproximadamente 9,8g e 28,8g de peso fresco para cada 500mL de água (22mg/kg/dia e 66mg/kg/dia), não há contra-indicações quanto ao seu consumo por ratas gestantes.

A análise dos resultados de pesquisas prévias permite supor que o Falso-boldo afeta o período gestacional quando em dosagem elevada, ratificando assim a constatação de Calliari-Martin et al (2001) que afirmam existir uma dose limite para cada agente químico, abaixo da qual não é observado nenhum efeito e a partir da qual esse efeito aparece, evidenciando que a embriofetotoxicidade de um agente ocorre, geralmente, de maneira dose-dependente. Presume-se, com isso, que somente podem ser utilizadas como recurso terapêutico as plantas cujos efeitos sejam bem conhecidos, desde que em doses sempre moderadas e bem determinadas, evitando-se excessos nas concentrações dos respectivos princípios ativos da espécie vegetal (Martins et al., 1995).

Salientamos a necessidade de estudos futuros, pois somente novas investigações poderão determinar a partir de que concentração a ingestão do extrato de Falso-boldo passa a ser prejudicial ao desempenho reprodutivo.

Agradecimentos

Ao Hospital Veterinário da PUCRS - Campus Uruguaiana, pelo espaço físico e material cedidos. Aos professores orientadores Esp. Sandro Márcio Nunes Ferrão e MSc. Gisélida Maria Baquini da Silva, pela atenção e incentivo constantes. A colega e amiga Cinthia Cardoso Rodrigues, pelo companheirismo de sempre. Ao Médico Veterinário Gustavo dos Santos Saucedo, pelo auxílio na análise embrionária. Ao professor Dr. Eduardo Brum Schwengber, pela análise estatística.

Referências

- Almeida, F. C. G.; Lemonica, I. P. 2000. The toxic effects of *Coleus barbatus* B. on the different periods of pregnancy in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, **73** (1): 53-60.
- Calliari-Martin, M. R.; Dieterich, S.; Bortolini, C. E.; Cunha, C. T.; Lorenceti, G. 2001. Embriotoxicidade da *Artemisia Vulgaris* Linné em ratas. **Revista Médica do Hospital São Vicente de Paulo**, **11** (28): 12-17.
- Camara, C. C.; Nascimento, N. R.; Macedo Filho C. L.; Almeida, F. B.; Fonteles, M. C. 2003. Antispasmodic effect of the essential oil of *Plectranthus barbatus* and some major constituents on the guinea-pig ileum. **Planta Médica**, **69** (12): 1080-1085.
- Coelho Netto, R. A.; Assis, L. A. G. 2001. *Coleus barbatus*: Um novo hospedeiro de *Ralstonia solanacearum*. **Revista de Fitopatologia Brasileira**, **27** (2): 226.
- Costa, M. do C.; Nascimento, S. C. 2003. Atividade citotóxica de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae). **Revista Acta Farmacêutica Bonaerense**, **22** (2): 155-158.
- Costa Neto, E. M.; Santos, L. M.; Santos, S. A. A.; Magalhães, S. F.; Amorim, T. C. 2005. Utilização de plantas medicinais relacionadas a eventos do ciclo reprodutivo feminino no distrito de Oliveira dos Campinhos, Santo Amaro, Bahia. **Sitientibus, Série Ciências Biológicas**, **5** (2): 125-127.
- Dubey, M. P.; Srimal, R. C.; Nityanand, S. 1981. Pharmacological studies on coleonol, a hypotensive diterpene from *Coleus forskohlii*. **Journal of Ethnopharmacology**, **3** (1): 1-13.
- Fialho, S. A. G. 1989. **Anestesiologia Veterinária**. Editora Nobel, São Paulo, Brasil, 234pp.
- Galvani, F. R.; Barreneche, M. de L. 1994. Levantamento das espécies vegetais utilizadas em medicina popular no município de Uruguaiana (RS). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Campus Uruguaiana**, **1** (1): 77-89.
- Gardner, D. G. 1994. Injury to the oral mucous membranes caused by the common houseplant *Dieffenbachia*: a review. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, **78** (5): 631-633.
- Gemtchújnicov, I. D. 1976. **Manual de taxonomia vegetal. Plantas de interesse econômico, agrícola, ornamental e medicinal**. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, Brasil, 368pp.

- Gonsalves, P. B. D.; Figueiredo, J. R. de; Freitas, V. J. de F. 2002. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, 340pp.
- Khera, K. S. 1984. Maternal toxicity – a possible factor in fetal malformations in mice. **Teratology**, **29** (3): 411-416.
- Lukhoba, C. W.; Simmond, M. S. J.; Paton, A. J. 2006. *Plectranthus*: a review of ethnobotanical uses. **Journal of Ethnopharmacology**, **103** (1): 1-24.
- Marcondes, F. K.; Bianchi, F. J.; Tanno, A. P. 2002. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, **78** (4): 609-614.
- Martins, E. R.; Castro, D. M.; Castellani, D. C.; Dias, J. E. 1995. **Plantas Mediciniais**. Imprensa Universitária, Viçosa, Brasil, 220pp.
- Merusse, J. L. B.; Lapichick, V. B. V.; Souza, N. L. de; Laus, J. E.; Neves, S. P.; Reichmann, M. de L.; Massironi, S. M. G.; Guimarães, H.; Alexandre, S. R. (Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA). 1996. **Manual para Técnicos em Bioterismo**. Editora EPM, São Paulo, Brasil, 259pp.
- Palm, G.; Brem, G. 1993. **Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina**. Editorial Hemisfério Sul, Buenos Aires, Argentina, 503pp.
- Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro. 2002. Resolução nº 1757. **Contra-indica o uso de plantas medicinais no âmbito do Estado do Rio de Janeiro**. Disponível em <<http://www.ibpm.org.br/downloads/RESSESJRJ1757CONTRAINDICACAO.doc>>. Acesso em 9 de maio de 2005.
- SAS Institute INC. SAS/STA™. 2001. **SAS user's guide for windows environment** Release 8.2, Cary, SAS Institute INC.