

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO
NA REGIÃO CENTRO-OESTE

BRUNA BRANDÃO BEAL

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICO-REPRODUTIVOS, TERATOGENICOS E
GENOTÓXICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *CAMPOMANESIA*
XANTHOCARPA EM CAMUNDONGOS SWISS**

CAMPO GRANDE/MS

2019

BRUNA BRANDÃO BEAL

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICO-REPRODUTIVOS, TERATOGENICOS E
GENOTÓXICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *CAMPOMANESIA*
XANTHOCARPA EM CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, com a finalidade de Obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andréia Conceição Milan Brochado Antoniolli Silva

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira

CAMPO GRANDE/MS

2019

BRUNA BRANDÃO BEAL

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICO-REPRODUTIVOS, TERATOGENICOS E
GENOTÓXICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *CAMPOMANESIA*
XANTHOCARPA EM CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, com a finalidade de Obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andréia Conceição Milan Brochado Antoniolli Silva

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira

CAMPO GRANDE/MS

2019

BRUNA BRANDÃO BEAL

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICO-REPRODUTIVOS, TERATOGENICOS E
GENOTÓXICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *CAMPOMANESIA*
XANTHOCARPA EM CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, com a finalidade de Obtenção do Título de Mestre.

Campo Grande, 24 de Setembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Andréia Conceição M. B. Antonioli-Silva

Prof.^a Dr.^a Elisvania Freitas dos Santos

Prof.^a. Dr.^a. Renata Perdomo

Prof. Dr. Adrivanio Baranoski (Suplente)

AGRADECIMENTOS

À Santíssima Trindade por sua infinita bondade e misericórdia que possibilitou chegar aqui e por todas as graças que nem sou digna de receber, à Santíssima Virgem Maria e a São José por ser meu constante amparo e patrocínio.

Ao meu amado esposo Carlos, por ser o motivo da maioria dos meus sorrisos e o apoio em todas as minhas lágrimas.

Aos meus pais, Marlene e Roberto, que não mediram sacrifícios e esforços para que não me faltasse uma boa educação, amor e incentivo.

À Katiane, uma amiga especial e de grande importância nessa caminhada.

À Yasmin, da faculdade, do mestrado, da Igreja, testemunha do meu casamento... Uma verdadeira companheira de longos anos. Sempre teremos histórias para contar todo esse tempo.

À Silvia e Juliana, por todos os dias que passamos juntas. Seja no período de experimento, de análise ou dos lanches que fizemos.

À Luana, Luane, Thais e Vivianne, e aos demais alunos e colaboradores do CeTroGen, por toda e qualquer ajuda que prontamente recebi durante os experimentos.

Ao Professor Rodrigo, por todos os ensinamentos, correções e orientação dada desde o período da minha graduação até a escrita dessa dissertação. Sou muito grata por todas as oportunidades que me deu. Espero corresponder de maneira positiva a todos os esforços que foram em mim empregados.

À Dra. Andréia, por toda a orientação dada para a execução e produção deste trabalho.

Aos professores componentes da minha banca de qualificação e defesa, Prof. Adrivanio, Prof^a. Elisvania, Prof^a. Renata e Prof^a. Susana, por todas as considerações que foram de grande importância para a melhoria deste trabalho.

A todos os demais professores do Programa por todo o conhecimento disponibilizado nas aulas e nas conversas pelos corredores.

Ao Programa de Saúde e Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, pela oportunidade da realização deste mestrado.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo suporte.

À Capes e CNPq, pelo apoio e suporte financeiro.

O meu sincero agradecimento a todos e que Deus retribua à cada um.

RESUMO

Campomanesia xanthocarpa Berg., popularmente conhecida como guaviroveira ou guabirobeira, tem amplo uso na medicina popular e é utilizada para regular o fluxo intestinal; para o tratamento de cistites, uretrites, disenterias, úlceras gástricas; e também apresenta efeito anti-inflamatório. Diversas possibilidades terapêuticas foram cientificamente testadas e comprovadas utilizando o extrato das folhas de tal planta. Frente a tantas possibilidades terapêuticas, tornou-se necessário avaliar os efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e genotóxicos do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* em camundongos Swiss, a fim de garantir a segurança do uso seja qual for o fim terapêutico desejado. Foram utilizados 45 camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss de ambos os sexos (15 machos; 30 fêmeas) em idade reprodutiva. As fêmeas prenhes foram distribuídas (n=10) em grupo controle, animais tratados com água ultrapura, e grupos experimentais que foram tratados com duas doses do EECx (100 e 1000mg/kg). Não foram observadas alterações nos parâmetros biométricos, reprodutivos, embrionetais e toxicogenéticos em nenhuma das doses testadas. Frente ao exposto, sugere-se segurança de uso do EECx, inclusive no período gestacional, já que o mesmo não apresentou efeitos toxicogenéticos, não interferiu nos parâmetros reprodutivos de camundongos fêmeas e nem no desenvolvimento embrionetal de suas proles.

Palavras-chaves: folhas; planta medicinal; Myrtaceae.

ABSTRACT

Campomanesia xanthocarpa Berg., Popularly known as guaviroveira or guabirobeira, is widely used in folk medicine and is used to regulate intestinal flow; for the treatment of cystitis, urethritis, dysenterias, gastric ulcers; It also has anti-inflammatory effect. Several therapeutic possibilities have been scientifically tested and proven using the extract of the leaves of such a plant. Faced with so many therapeutic possibilities, it has become necessary to evaluate the toxic-reproductive, teratogenic and genotoxic effects of the ethanolic extract of *Campomanesia xanthocarpa* leaves in Swiss mice, in order to ensure the safe use whatever the desired therapeutic purpose. Forty-five mice (*Mus musculus*) of the Swiss strain of both sexes (15 males; 30 females) of reproductive age were used. The pregnant females were distributed (n = 10) in control group, animals treated with ultrapure water, and experimental groups that were treated with two doses of EECx (100 and 1000mg / kg). No changes in biometric, reproductive, embryofetal and toxicogenetic parameters were observed at any of the doses tested. In view of the above, it is suggested that EECx is safe to use, even during the gestational period, since it had no toxicogenetic effects, did not interfere in the reproductive parameters of female mice or in the embryofetal development of their offspring.

Keywords: leaves; medicinal plant; Myrtaceae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Perfil químico da família Myrtaceae.....	16
Figura 2- <i>Campomanesia xanthocarpa</i> : Vista da árvore.....	17
Figura 3 - <i>Campomanesia xanthocarpa</i> : Detalhe das flores.....	18
Figura 4 - <i>Campomanesia xanthocarpa</i> – Detalhe das folhas, dos frutos e das sementes.....	19
Figura 5 - Fotomicrografia de eritrócitos policromáticos (PCEs) de sangue periférico de rato Wistar. A seta indica micronúcleo. Coloração: Alaranjado de acridina. Microscopia de fluorescência, aumento de 1000x.....	21
Figura 6 - 6A: Parâmetros biométricos das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx). 6B e 6C: Peso absoluto e relativo dos órgãos das fêmeas tratadas com EECx, respectivamente.....	36
Figura 7 - 7A: Ensaio do micronúcleo em sangue periférico realizado em fêmeas tratadas com extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx). 7B: Ensaio de fagocitose esplênica realizado em fêmeas tratadas com EECx.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros reprodutivos das fêmeas prenhes tratadas com o extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx).....	38
Tabela 2 - Malformações externas encontradas na prole das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx).....	39
Tabela 3 - Malformações viscerais encontradas na prole das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx).....	40
Tabela 4 - Malformações esqueléticas encontradas na prole das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx).....	41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Plantas medicinais.....	14
2.2 A família Myrtaceae.....	14
2.2.1 Aspectos botânicos.....	14
2.2.2 Aspectos químicos e biológicos.....	15
2.3 O gênero <i>Campomanesia</i>.....	16
2.4 <i>Campomanesia xanthocarpa</i>.....	16
2.5 Ensaios biológicos.....	20
2.5.1 Toxicogenética.....	20
2.5.2 Teratogenicidade.....	21
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo Geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
5 MANUSCRITO.....	29
RESUMO.....	30
1 INTRODUÇÃO.....	31
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
2.1 Coleta do material botânico.....	31
2.2 Preparação do extrato etanólico de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (EECx)	32
2.3 Animais e condições ambientais.....	32
2.4 Delineamento Experimental.....	32
2.4.1 Ensaios Biológicos.....	33
2.4.2 Parâmetros Biométricos.....	34
2.4.3 Desempenho Reprodutivo e Desenvolvimento Embriofetal.....	34
2.4.4 Ensaio do Micronúcleo em Sangue Periférico.....	35
2.4.5 Ensaio de Fagocitose Esplênica.....	35
2.5 Análise estatística.....	35
3 RESULTADOS.....	36
3.1 Avaliação dos parâmetros biométricos.....	36
3.2 Avaliação do desempenho reprodutivo.....	38
3.3 Avaliação do desenvolvimento embriofetal.....	39
3.4 Avaliação toxicogenética.....	41
4 DISCUSSÃO.....	43
5 CONCLUSÃO.....	47
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52
7 ANEXOS.....	53

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais representa um recurso terapêutico para a população mundial. Uma vez que o comércio de ervas, folhas, raízes, cascas, sementes de plantas potencialmente medicinais pode ser encontrado nas grandes cidades em feiras, bancas e até mesmo em lojas especializadas nesse tipo de produto (GOTTLIEB; KAPLAN; BORIN, 1996). Pessoas com menor poder aquisitivo podem facilmente ter acesso ao produto natural devido ao seu baixo custo (ANDRADE et al., 2005), possibilitando o tratamento das doenças que os acometem.

A biodiversidade brasileira é reconhecida, por representar cerca de 20% da flora mundial. Tal riqueza biológica tem sido estudada a fim de explorar o potencial medicinal, uma vez que diversas plantas apresentam uma quantidade significativa de compostos bioativos (OLIVEIRA et al., 2012).

Dentre as plantas medicinais identificadas pelo conhecimento popular e que podem ser facilmente adquiridas em mercados/feiras estão as plantas do gênero *Campomanesia* Ruiz & Pav, pertencentes à família Myrtaceae, comumente conhecidas por terem frutos adocicados, utilizados para a produção de doces e por seu potencial uso terapêutico (KUSKOSKI et al., 2006; VALLILO et al., 2006a; VALLILO et al., 2006b).

Existem vários estudos na literatura a respeito de possíveis atividades terapêuticas da *C. xanthocarpa*. No entanto, a avaliação toxicológica e teratogênica ainda é escassa. Estudos de Klafke et al. (2010) mostraram que o extrato reduziu o nível de colesterol no sangue em pacientes hipercolesterolêmicos, o que demonstra uma possível aplicação terapêutica. Klafke et al. (2012) mostraram que o extrato de *C. xanthocarpa* possui atividade antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica em camundongos, o que pode ser efetivo para prevenir a formação de trombose. O estudo de Markman; Bacchi; Kato (2004) mostrou que o extrato hidroetanólico de *C. xanthocarpa* possui atividades efetivas na prevenção de úlceras gástricas em ratos. Vinagre et al. (2010) sugerem ainda que a decocção de folhas de *C. xanthocarpa* pode ser útil para o controle do *diabetes mellitus*.

Devido à escassez de avaliações toxicológicas e teratogênicas para garantir a segurança do uso de tal planta, tornou-se necessário o estudo pré-clínico. Frente ao exposto, no trabalho foram avaliados os efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e

genotóxicos do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx) em camundongos Swiss.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

A utilização de plantas como fonte primária para medicamentos, alimentação, cosméticos e outros ocorre desde as antigas civilizações. Com o evento das migrações, esses conhecimentos foram difundidos. (CORDELL, 1993).

No fim do século XX, a utilização de plantas medicinais foi difundida entre as populações. Tal difusão foi devida ao reconhecimento do uso pelos sistemas de medicina tradicional e pela inserção das plantas medicinais em farmacopeias, seja pelo poder de cura no estado *in natura* ou como fonte de novos medicamentos (FREITAS, 1999; ELVIN-LEWIS, 2001).

O uso de plantas medicinais representa um recurso terapêutico para a população mundial. Uma vez que o comércio de ervas, folhas, raízes, cascas e sementes de plantas potencialmente medicinais podem ser encontrado nas grandes cidades em feiras, bancas e até mesmo em lojas especializadas nesse tipo de produto (GOTTLIEB; KAPLAN; BORIN, 1996). Pessoas com menor poder aquisitivo podem facilmente ter acesso ao produto natural devido ao seu baixo custo (ANDRADE et al., 2005), possibilitando o tratamento das doenças que os acometem.

Dentre as plantas medicinais identificadas pelo conhecimento popular e que podem ser facilmente adquiridas em mercados/feiras estão as plantas do gênero *Campomanesia* Ruiz & Pav, pertencentes à família Myrtaceae, comumente conhecidas por terem frutos adocicados, utilizados para a produção de doces e por seu potencial uso terapêutico (KUSKOSKI et al., 2006; VALLILO et al., 2006a; VALLILO et al., 2006b).

2.2 A família Myrtaceae

2.2.1 Aspectos botânicos

Com representantes de porte arbustivo ou arbóreo, a família Myrtaceae Jussieu contém cerca de 3.500 espécies, dividida em 100 gêneros botânicos (BARROSO e PEIXOTO, 1991).

Possuem folhas simples, coriáceas, inteiras, opostas ou, às vezes, alternas, sem ou com estípulas muito pequenas. Há presença de pontuações devido às glândulas oleíferas. O tipo de nervação é perinérvea, com frequente formação de nervura marginal (LEGRAND e KLEIN, 1991; JOLY, 1991).

Geralmente, as flores são brancas ou vermelhas, efêmeras, hermafroditas, com simetria radial, normalmente pentâmeras, mono ou diclamídeas, frequentemente com um receptáculo bem desenvolvido. O androceu é polistêmone e dialistêmone, com estames desprovidos de anteras com bases fixas. Sugerem que o número aumentado de estames nas mirtáceas seja devido à polinização por borboletas e pássaros. O ovário apresenta-se de súpero a semi-ífero, até ífero, variando de uni a multilocular. O estigma é indiviso. Frequentemente, as sementes mostram poliembrionia e, algumas vezes, são aladas. (LEGRAND e KLEIN, 1991).

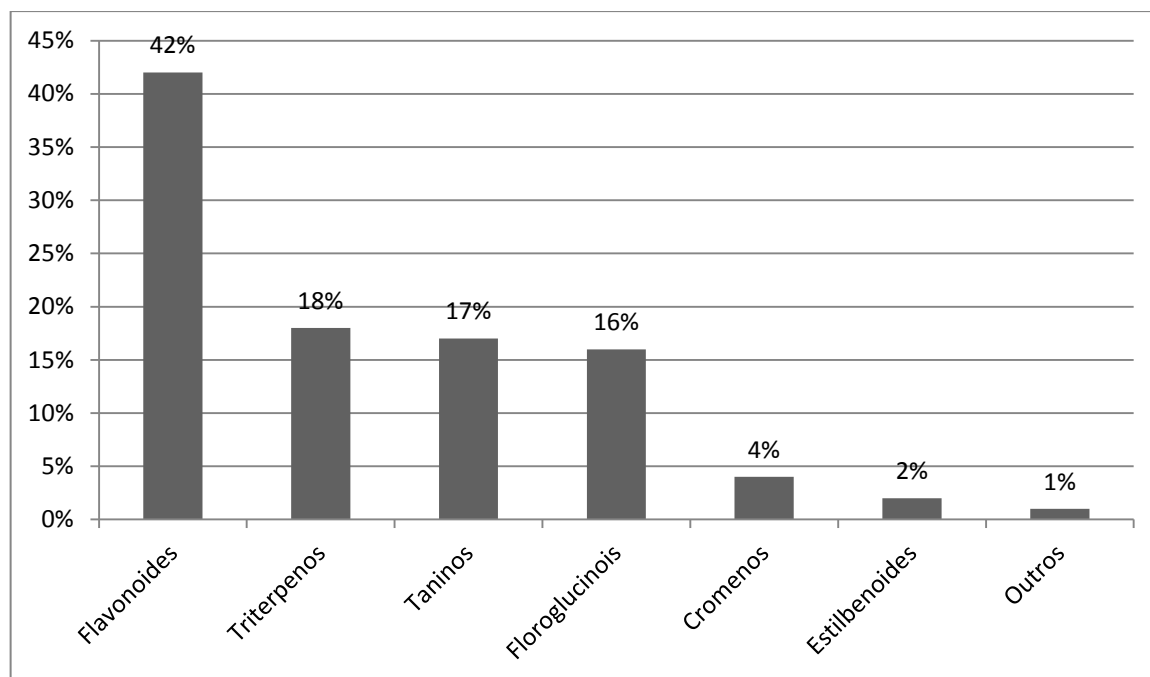
A anatomia do caule é caracterizada pelo floema intraxilemático e pontoações areoladas guarnecidas. As folhas são hipostomáticas, possuindo estômatos anomocíticos e paracíticos. Taninos e cristais de oxalato de cálcio são frequentes (METCALFE e CHALK, 1972).

2.2.2 Aspectos químicos e biológicos

As espécies da família Myrtaceae possuem como componentes químicos compostos voláteis (mono- e sesquiterpenos), além de leucoantocianinas, taninos, ácidos fenólicos, ésteres, flavonoides e algumas saponinas (STASI; HIRAUMA-LIMA, 2002).

Um estudo do perfil químico e do uso popular da família Myrtaceae foi realizado por Cruz e Kaplan (2004). O perfil químico é caracterizado pela presença de taninos, flavonóides, mono- e sesquiterpenos, triterpenoides, derivados do floroglucinol, cromenos, estilbenoides e outros (Figura 1).

Figura 1 - Perfil químico da família Myrtaceae.



Fonte: Cruz e Kaplan (2004).

Dentre os gêneros da família Myrtaceae, os que mais se destacam no país são: *Psidium*, *Myrtus*, *Syzigium*, *Myrcia*, *Eugenia* e *Campomanesia*.

2.3 O gênero *Campomanesia*

O gênero *Campomanesia* Ruiz & Pav ganha destaque entre a família Myrtaceae por apresentar 25 espécies, sendo destas, 15 espécies nativas brasileiras (BIAVATTI et al., 2004). É distribuído no Cerrado brasileiro e em outros países do continente sul-americano (LORENZI et al., 2006; VALLILO et al., 2006a; VALLILO et al., 2006b).

Os frutos são saborosos, adocicados e considerados relevantes para a alimentação de pequenos mamíferos, aves, répteis e pela população humana, seja no estado natural ou na forma de licores, geleias, sucos, sorvetes e doces (KUSKOSKI et al., 2006; VALLILO et al., 2006b).

2.4 *Campomanesia xanthocarpa*

A espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg., popularmente conhecida como guavirova ou guabiroba pode ser encontrada no Brasil e em outros países da América do Sul (LORENZI, 1992).

A *C. xanthocarpa* é uma árvore semidecidual (Figura 2) de 10 a 25 m de altura e de 30 a 70 cm de diâmetro na base. A copa é arredondada com folhagem densa de coloração verde-escura na parte adaxial e verde-clara na abaxial. Possui o tronco com caneluras e deiscência em tiras finos, ritidoma pardo-acinzentado e novos ramos glabros amarelo-claros ou acinzentados (LEGRAND; KLEIN, 1977; REITZ; KLEIN; REIS, 1988; MARCHIORI; SOBRAL, 1997).

Figura 2- *Campomanesia xanthocarpa*: Vista da árvore.



Fonte: João A. Bagatini

As folhas são simples, opostas, pecioladas, limbo ovalado-oblongo, ápice agudo ou acuminado e base aguda, por vezes assimétrica. O contorno foliar e o tamanho são variáveis, geralmente medindo entre 3,5 e 10 cm de comprimento e 2,5 e 5 cm de largura. A lâmina foliar possui consistência membranácea e as nervuras estão impressas na face adaxial das folhas e muito saliente na face abaxial. As flores (Figura 3) são hermafroditas e de coloração branca, com cinco pétalas obovadas. A floração acontece entre setembro e novembro (LEGRAND; KLEIN, 1977; REITZ; KLEIN; REIS, 1988; MARCHIORI; SOBRAL, 1997).

Figura 3 - *Campomanesia xanthocarpa*: Detalhe das flores.



Fonte: Gerson L. Lopes

Os frutos (Figura 4) são comestíveis e na forma de bagas globosas, coroadas por sépalas. Medem entre 2 e 3 cm de diâmetro, com epicarpo liso e fino. A maturação ocorre entre novembro e dezembro, e a coloração do epicarpo passa do verde para o amarelo ou alaranjado. O endocarpo é succulento, doce, suavemente aromático, e possui muitas sementes ovaladas e achatadas (LEGRAND; KLEIN, 1977; REITZ; KLEIN; REIS, 1988; SANCHOTENE, 1985; MARCHIORI; SOBRAL, 1997). As sementes (Figura 4) apresentam diâmetro médio longitudinal de 0,77 cm e transversal de 0,62 cm (WESP, 2014).

Figura 4 - *Campomanesia xanthocarpa*: Detalhe das folhas, dos frutos e das sementes.



Fonte: Gerson L. Lopes

Esta espécie possui sinônimas botânicas, as quais são: *Eugenia xanthocarpa* Mart., *Campomanesia crenata* O. Berg, *Campomanesia dusenii* Kausel, *Campomanesia malifolia* O. Berg, *Campomanesia rhombea* O. Berg, *Eugenia variabilis* Mart. e *Psidium malifolium* (O.Berg) F. Muell. (REFLORA, 2019).

A medicina popular utiliza tanto as folhas, como a casca do caule de tal planta para regular o fluxo intestinal e o tratamento de cistites, uretrites, disenterias, úlceras gástricas e como um agente anti-inflamatório (D'ÁVILA, 1990; BARROSO, 1991, CRAVO, 1994; ALICE et al., 1995).

Existem vários estudos na literatura a respeito de possíveis atividades terapêuticas da *C. xanthocarpa*. Estudos de Klafke et al. (2010) mostraram que o extrato reduziu o nível de colesterol no sangue em pacientes hipercolesterolêmicos, o que demonstra uma possível aplicação terapêutica.

Klafke et al. (2012) mostraram que o extrato de *C. xanthocarpa* possui atividade antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica em camundongos, o que pode ser efetivo para prevenir a formação de trombose.

O estudo de Markman; Bacchi; Kato (2004) mostrou que o extrato hidroetanólico de *C. xanthocarpa* possui atividades efetivas na prevenção de úlceras gástricas em ratos. Vinagre et al. (2010) sugerem ainda que a decocção de folhas de *C. xanthocarpa* pode ser útil para o controle do *diabetes mellitus*.

Biavatti et al. (2004) observou um efeito anti-hiperglicêmico significativo após 4 semanas de tratamento com extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa*. Também foi observado menor ganho de peso nos rato tratados com a infusão de *C. xanthocarpa* quando alimentados com uma dieta hipercalórica.

O estudo de Pereira et al. (2012) mostrou que um potencial antioxidante para os frutos de *C. xanthocarpa*.

Brandelli et al. (2013) observou uma inibição total do crescimento de *Trichomonas vaginalis* após uma incubação pelo período de 4 horas com o extrato de *C. xanthocarpa*. Além disso, não foram observadas atividades hemolíticas significativa contra os heritrócitos humanos. Padilla et al. (2018) observou uma atividade antiviral para o extrato de *C. xanthocarpa* contra a cepa do herpesvírus suíno 1 (SuHV-1).

O estudo de Otero et al. (2017) observou uma ação antiplaquetária quando estimulada pelo agente agonista, e uma contribuição para o efeito antiplaquetário quando associado ao ácido acetilsalicílico (AAS) para ambos os agonistas.

Da Silva et al. (2016) realizaram um estudo extrato hidroetanólico de *C. xanthocarpa*. Os resultados mostram que o extrato inibiu significativamente o edema da pata, reduziu a migração leucocitária e o vazamento de proteína para a cavidade pleural.

Quanto à composição química das folhas de *C. xanthocarpa*, foi verificada a presença de flavonoides, saponinas, taninos e terpenos (KLAFKE et al., 2010; SANT'ANNA et al., 2017).

2.5 Ensaios biológicos

2.5.1 Toxicogenética

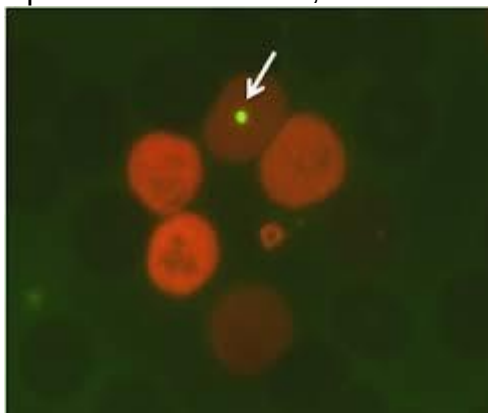
As avaliações dos parâmetros biométricos são também necessárias, uma vez que a perda de peso e variações no peso absoluto e relativo dos órgãos pode indicar toxicidade (DANESI; TACCA, 2004; YU et al., 2015).

O ensaio de micronúcleo é considerado de grande importância pelas agências de pesquisa da área de genética toxicológica (OLIVEIRA et al., 2009; NAVARRO et

al., 2014; KANG et al., 2013). Os micronúcleos podem ser formados por quebras de cromossomos durante o processo de mitose, sendo esta alteração denominada danos clastogênicos, ou por um cromossomo não ter migrado durante a anáfase da mitose e permanecer na célula, nesse caso danos aneugênicos (TORRES-BUGARÉN et al., 2015). Na maturação das células da linhagem eritrocitária na medula óssea, o núcleo principal é expelido do eritrócito nucleado e o micronúcleo é mantido na célula. Estes micronúcleos (Figura 5) são analisados em eritrócitos policromáticos (PCEs, eritrócitos jovens) tanto na medula óssea quanto no sangue periférico (RIBEIRO, 2006).

O ensaio é de grande importância em testes pré-clínicos, os quais têm como objetivo avaliar os riscos potenciais para a saúde humana após a exposição de modelos experimentais a agentes químicos e físicos (BEMIS; TOROUS; DERTINGER, 2015; RIBEIRO, 2016).

Figura 5 - Fotomicrografia de eritrócitos policromáticos (PCEs) de sangue periférico de rato Wistar. A seta indica micronúcleo. Coloração: Alaranjado de acridina. Microscopia de fluorescência, aumento de 1000x.



Fonte: Livia Cristina Hernandez, Laboratório de Nutrigenômica – FCFRP/USP, 2011.

2.5.2 Teratogenicidade

As malformações congênitas podem ser ocasionadas por fatores genéticos ou determinadas por desregulações químicas, físicas ou biológicas. Logo, os danos causados no DNA, podem relacionar-se a efeitos teratogênicos. Uma vez que tais danos podem afetar os mecanismos de mitose, meiose e apoptose (KUPSCO e SCHLENK, 2015; MOORE e PERSAUD, 1995; OLIVEIRA et al., 2009; SINGH et al., 2015). Algumas substâncias possuem a capacidade de ultrapassar a barreira placentária, portanto se houver a exposição de uma gestante e/ou fêmea prenhe a

agentes teratogênicos, possíveis malformações congênitas podem ocorrer devido a alterações no desenvolvimento embrio-fetal (MOORE E PERSAUD, 1995; ROSENFELD, 2015).

Os relatos de agentes teratógenos, em geral, são realizados por meio de estudos retrospectivos em humanos. Impossibilitando a prevenção de tais malformações, uma vez que elas ocorreram nesta amostrada (HOLMES, 2011).

Tendo em vista que a principal finalidade do estudo de teratogenicidade é identificar possíveis teratógenos a fim de alertar sobre os riscos associados a utilização de tal agente e de que os ensaios experimentais são a melhor forma de prever os efeitos dos agentes potencialmente teratogênicos, tais estudos são de importância para proteção da prole e devem ser ampliados (HOLMES, 2011; MOORE e PERSAUD, 1995; OLIVEIRA et al., 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e genotóxicos do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* em camundongos.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito do EECx nos parâmetros biométricos de camundongos *Swiss* fêmeas;

Avaliar o efeito do EECx nos parâmetros reprodutivos por meio dos ensaios de desempenho reprodutivo em camundongos *Swiss* fêmeas;

Avaliar o efeito do EECx no desenvolvimento embriofetal por meio dos ensaios de teratogênese em camundongos *Swiss* fêmeas;

Avaliar o efeito genotóxico do EECx por meio dos ensaios de micronúcleo em sangue periférico e fagocitose esplênica em camundongos *Swiss* fêmeas.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALICE, C. B., SIQUEIRA, N. C. S., MENTZ, L. A., BRASIL, G. A. A. S., JOSÉ, K. F. D. Plantas Medicinais de Uso Popular: Atlas Farmacognóstico. Ulbra, Canoas 205p. 1995.

ANDRADE, A. M., BIZÃO, N., FARIA, F. S., MOREIRA, T. C., MURAKAMI, D. M. Avaliação do efeito diurético das folhas e raízes de *Boerhavia diffusa* L. (pega-pinto) em ratos. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, v. 3, n. 2, p. 56-61, 2005.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. V.2, p.114-126.

BEMIS, J. C., TOROUS, D. K., DERTINGER, S. D. Part 2. Assessment of micronucleus formation in rats after chronic exposure to new-technology diesel exhaust in the ACES bioassay. Research report (Health Effects Institute), n. 184, p. 69-82; discussion 141-71, 2015.

BIAVATTI, M. W., FARIAS, C., CURTIUS, F., BRASIL, L. M., HORT, S., SCHUSTER, L., PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 93, n. 2-3, p. 385-389, 2004.

BRANDELLI, C. L. C., VIEIRA, P. D. B., MACEDO, A. J., TASCA, T. Remarkable anti-trichomonas vaginalis activity of plants traditionally used by the Mbyá-Guarani indigenous group in Brazil. *BioMed research international*, v. 2013, 2013.

CORDELL, G. A. Pharmacognosy-new roots for an old science. *Studies in natural products chemistry*, v. 13, p. 629-629, 1993.

CRAVO, A. B., 1994. Frutas e ervas que curam: panacéia vegetal, fourth ed. Hemus, São Paulo, p. 438.

CRUZ, A. V. DE M.; KAPLAN, M. A. C. Estudo comparativo do perfil químico e do uso popular de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae In:Reunião Anual Sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares, 26, 2004b; Rio de Janeiro; Anais : Universidade Federal do rio de Janeiro, 2004.

DA SILVA, É. R. S. SALMAZZO, G. R., DA SILVA ARRIGO, J., OLIVEIRA, R. J., KASSUYA, C. A. L., CARDOSO, C. A. L. Anti-inflammatory Evaluation and Toxicological Analysis of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. *Inflammation*, v. 39, n. 4, p. 1462-1468, 2016.

DANESI, R.; DEL TACCA, M. Teratogenesis and immunosuppressive treatment. In: Transplantation proceedings. Elsevier, 2004. p. 705-707.

D'ÁVILA, M. C., 1990. Da flora medicinal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Thesis. Faculdade Livre de Medicina e Pharmacia de Porto Alegre, p. 155.

ELVIN-LEWIS, M. Should we be concerned about herbal remedies. *Journal of ethnopharmacology*, v. 75, n. 2-3, p. 141-164, 2001.

FREITAS, P.C.D. 1999. Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: *Pothomorphe umbellata* (L) Miq e *Piper regnellii* (Miq) CDC. São Paulo. [Tese de Doutorado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 1999.

GOTTLIEB, O. R., KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. M. B. Biodiversidade: um enfoque químico-biológico. Editora UFRJ, 1996.

HOLMES, L. B. Human teratogens: update 2010. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 91(1):1-7, 2011.

JOLY, A.B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 10 ed. São Paulo: Nacional, 1991. p.504-505.

KANG, S. H., KWON, J. Y., LEE, J. K., SEO, Y. R. Recent advances in in vivo genotoxicity testing: prediction of carcinogenic potential using comet and micronucleus assay in animal models. *Journal of cancer prevention*, v. 18, n. 4, p. 277-288, 2013.

KLAFKE, J. Z., DA SILVA, M. A., PANIGAS, T. F., BELLI, K.C., DE OLIVEIRA, M. F., BARICHELO, M. M., RIGO, F. K., ROSSATO, M. F., SANTOS, A. R. S., PIZZOLATTI, M. G., FERREIRA, J., VIECILI, P. R. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. *Journal of ethnopharmacology*, v. 127, n. 2, p. 299-305, 2010.

KLAFKE, J. Z., SILVA, M. A., ROSSATO, M. F., TREVISAN, G., WALKER, C. I. B., LEAL, C. A. M., BORGES, D. O., SCHETINGER, M. R. C., MORESCO, R. N., DUARTE, M. M. M. F., SANTOS, A. R. S., VIECILI, P. R. N., FERREIRA, J. Antiplatelet, antithrombotic, and fibrinolytic activities of *Campomanesia xanthocarpa*. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, v. 2012, 2012.

KUPSCO, A.; SCHLENK, D. Oxidative stress, unfolded protein response, and apoptosis in developmental toxicity. *Int Rev Cell Mol Biol.* 317:1-66, 2015.

KUSKOSKI, E. M., SUERO, A. G.; MORALES, M. T., FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LEGRAND, C.D.; KLEIN, R.M. Mirtáceas. In: REITZ, R. *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí, SC: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 596602. 1977.

LEGRAND, C.D.; KLEIN, R.M. Mirtáceas: *Campomanesia*, *Feijoa*, *Britoa*, *Myrrhinium*, *Hexaclamys*, *Siphoneugena*, *Myrciantes*, *Neiomitrantes*, *Psidium*. In: REITZ, P.R. *Flora Ilustrada. Catarinens*, Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p.208-2010, 1991.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum 352p, v. 4, 1992.

MARCHIORI, J.N.C.; SOBRAL, M. Dendrologia das angiospermas: myrtales. Santa Maria: Editora da UFSM, 1997. 304 p.

MARKMAN, B. E. O., BACCHI, E. M., KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. Journal of Ethnopharmacology, v. 94, n. 1, p. 55-57, 2004.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of dicotyledons, Oxford: Cleredon Press, 1972. v.2, p.620-631.

MOORE, B.A.; PERSUAD, T.V.N. Embriologia Básica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

NAVARRO, S. D., BEATRIZ, A., MEZA, A., PESARINI, J. R., GOMES, R. S., KARAZIACK, C. B., CUNHA-LAURA, A. L., MONREAL, A. C. D., RAMÃO, W., LACERDA JR., V., MAURO, M. O. A new synthetic resorcinolic lipid 3-Heptyl-3, 4, 6-trimethoxy-3H-isobenzofuran-1-one: evaluation of toxicology and ability to potentiate the mutagenic and apoptotic effects of cyclophosphamide. European journal of medicinal chemistry, v. 75, p. 132-142, 2014.

OLIVEIRA, R. J., SALLES, M. J. S., DA SILVA, A. F., KANNO, T. Y. N., DOS SANTOS LOURENÇO, A. C., FREIRIA, G. A., MATIAZI, H. Z., RIBEIRO, L. R., MANTOVANI, M. S. Effects of the polysaccharide β -glucan on clastogenicity and teratogenicity caused by acute exposure to cyclophosphamide in mice. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 53, n. 3, p. 164-173, 2009.

OLIVEIRA, V. B.; YAMADA, L. T.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. Food Research International, v.48, p. 170–179, 2012.

OTERO, J. S., HIRSCH, G. E., KLAFKE, J. Z., PORTO, F. G., DE ALMEIDA, A. S., NASCIMENTO, S., SCHMIDT, A., SILVA, B., PEREIRA, R. L. D., JASKULSKI, M., PARISI, M. M., GUARDA, N. S., MORESCO, R. N., AITA, C. A. M., VICIELI, P. R. N. Inhibitory effect of *Campomanesia xanthocarpa* in platelet aggregation: Comparison and synergism with acetylsalicylic acid. Thrombosis research, v. 154, p. 42-49, 2017.

PADILLA, M. A., SIMONI, I. C., HOE, V. M. H., FERNANDES, M. J. B., ARNS, C. W., BRITO, J. R., LAGO, J. H. G. In vitro antiviral activity of Brazilian Cerrado plant extracts against animal and human herpesviruses. Journal of Medicinal Plants Research, v. 12, n. 10, p. 106-115, 2018.

PEREIRA, M. C., STEFFENS, R. S., JABLONSKI, A., HERTZ, P. F., DE O. RIOS, A., VIZZOTTO, M., FLÔRES, S. H. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. Journal of agricultural and food chemistry, v. 60, n. 12, p. 3061-3067, 2012.

REFLORA. *Campomanesia*. In: Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10335>>. Acesso em: 01 março 2019.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Corag, 1988. 528 p.

RIBEIRO, L.R. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo. In: Ribeiro, L.R., Salvadori, D.M.F., Marques, E.K. Mutagênese ambiental. 1 ed. Canoas: Ulbra, 2006. P. 201-219.

ROSENFELD, C. S. Sex-Specific Placental Responses in Fetal Development. *Endocrinology*. 156(10):3422-34, 2015.

SANCHOTENE, M.C.C. Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana. Porto Alegre: Feplan, 311 p. 1985.

SANT'ANNA, L.S. et al. Chemical Composition and Hypotensive Effect of *Campomanesia xanthocarpa*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, 2017.

SINGH, I., OZTURK, N., CORDERO, J., MEHTA, A., HASAN, D., COSENTINO, C., SEBASTIAN, C., KRÜGER, M., LOOSO, M., CARRARO, G., BELLUSCI, S., SEEGER, W., BRAUN, T., MOSTOSLAVSKY, R., BARRETO, G. High mobility group protein-mediated transcription requires DNA damage marker γ -H2AX. *Cell research*, v. 25, n. 7, p. 837, 2015.

STASI, L. C. DI; HIRAUMA-LIMA, C. A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. SÃO PAULO: UNESP, 2002. p. 606.

TORRES-BUGARÍN, O. ROMERO, N. M., IBARRA, M. L. R., FLORES-GARCÍA, A., ABURTO, P. V., ZAVALA-CERNA, M. G. Genotoxic effect in autoimmune diseases evaluated by the micronucleus test assay: our experience and literature review. *BioMed research international*, v. 2015, 2015.

VALLILO, M. I., BUSTILLOS, O. V., Aguiar, O. T. D. de. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg-Myrtaceae. *Revista do Instituto Florestal*, v. 18, n. 1, p. 15-22, 2006a.

VALLILO, M. I., LAMARDO, L. C. A., GABERLOTTI, M. L., OLIVEIRA, E. D., MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg. *Ciência e tecnologia de alimentos*, v. 26, n. 4, p. 725-955, 2006b.

VINAGRE, A. S., RÖNNAU, Â. D. S. R. O., PEREIRA, S. F., SILVEIRA, L. U. D., WILLAND, E. D. F., SUYENAGA, E. S. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 46, n. 2, p. 169-177, 2010.

WESP, C.L. Caracterização morfológica e físico-química de guabirobeiras (*Campomanesia* spp.) acessadas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. 232 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

YU, Y., YANG, Y., ZHAO, X., LIU, X., XUE, J., ZHANG, J., YANG, A. Exposure to the mixture of organophosphorus pesticides is embryotoxic and teratogenic on gestational rats during the sensitive period. *Environmental toxicology*, 2015.

5 MANUSCRITO

O manuscrito foi submetido à *Journal of Ethnopharmacology*.

Ausência de efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e genotóxicos do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* em camundongos

Bruna Brandão Beal^{a,b}, Yasmin Lanny Ventura Said^{a,b}, Silvia Cordeiro das Neves^{a,b}, Juliana Miron Vani^{a,b}, Antonio Carlos Duenhas Monreal^a, Cláudia Andréa Lima Cardoso^c, Candida Aparecida Leite Kassuya^d, Rodrigo Juliano Oliveira^{a,b,e}, Andréia Conceição Milan Brochado Antonioli-Silva^{a,b}

^a Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen), Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

^b Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta (FAMED), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

^c Centro de Estudos em Recursos Naturais, Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

^d Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brasil.

^e Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição (FACFAN), Campo Grande, MS, Brasil.

^f Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Centro de Ciências Biológicas (CCB), Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná, Brasil.

RESUMO

Relevância etnofarmacológica: *Campomanesia xanthocarpa* Berg., popularmente conhecida como guaviroveira ou guabirobeira, tem amplo uso na medicina popular e é utilizada para regular o fluxo intestinal; para o tratamento de cistites, uretrites, disenterias, úlceras gástricas; e também apresenta efeito anti-inflamatório. Diversas possibilidades terapêuticas foram cientificamente testadas e comprovadas utilizando o extrato dessa planta.

Objetivo do estudo: Frente a tantas possibilidades terapêuticas, tornou-se necessário avaliar os efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e genotóxicos do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx), afim de garantir a segurança do uso seja qual for o fim terapêutico desejado.

Material e métodos: Foram utilizados 45 camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss de ambos os sexos (15 machos; 30 fêmeas) em idade reprodutiva. As fêmeas prenhes foram distribuídas (n=10) em grupo controle, animais tratados com água ultrapura, e grupos experimentais que foram tratados com duas doses do EECx (100 e 1000mg/kg).

Resultados: Não foram observadas alterações nos parâmetros biométricos, reprodutivos, embriofetais e toxicogenéticos em nenhuma das doses testadas.

Conclusão: Frente ao exposto, sugere-se segurança de uso do EECx, inclusive no período gestacional, já que o mesmo não apresentou efeitos toxicogenéticos, não interferiu nos parâmetros reprodutivos de camundongos fêmeas e nem no desenvolvimento embriofetal de suas proles.

Palavras-chaves: planta medicinal; Myrtaceae; folhas; guavirova; guabiroba.

1 INTRODUÇÃO

A *Campomanesia xanthocarpa* Berg., popularmente conhecida como guaviroveira ou guabirobeira pode ser encontrada no Brasil e em outros países da América do Sul (LORENZI, 1992). A medicina popular utiliza tanto as folhas, como a casca do caule dessa planta para tratar cistites, uretrites, disenterias e úlceras gástricas (ALICE et al., 1995, D'ÁVILA, 1990), além de ter o seu efeito anti-inflamatório explorado (CRAVO, 1994;).

Existem vários estudos na literatura a respeito de possíveis atividades terapêuticas das folhas *C. xanthocarpa*, como: redução do nível plasmático de colesterol (KLAFKE et al., 2010); atividade antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica (KLAFKE et al., 2012; OTERO et al., 2017); prevenção de úlceras gástricas (MARKMAN, BACCHI, KATO, 2004); controle do *Diabetes mellitus* (VINAGRE et al., 2010); atividade anti-hiperglicêmica e diminuição do ganho de peso (BIAVATTI et al., 2014); inibição total do crescimento de *Trichomonas vaginalis* (BRANDELLI et al., 2013); atividade antiviral contra a cepa do herpesvírus suíno 1 (SuHV-1) (PADILLA et al., 2018); e inibição do edema da pata, redução da migração leucocitária e do vazamento de proteína para a cavidade pleural (DA SILVA et al., 2016).

Devido a tantas possibilidades terapêuticas, tornou-se necessário avaliar os efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e genotóxicos do extrato etanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx) em camundongos *Swiss*, afim de garantir a segurança do uso seja qual for o fim terapêutico desejado.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta do material botânico

As folhas *C. xanthocarpa* foram coletadas em Itaporã, Mato Grosso do Sul, Brasil. A planta foi identificada e uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Federal da Grande Dourados (DDMS), na cidade de Dourados-MS, sob o registro #4644. Essa planta também foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o cadastro de acesso A5EC80E.

2.2 Preparação do extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx)

Folhas frescas de *C. xanthocarpa* (300 g) foram trituradas e extraídas com 3 litros de etanol (95%), por maceração, por sete dias consecutivos. Três extrações foram realizadas usando a mesma quantidade de solvente. Depois, o solvente foi concentrado em um evaporador rotativo e subsequentemente seco numa capela de exaustão, resultando em 46,9 g de extrato etanólico.

O EECx foi diluído em água ultrapura e administrado na dose de 100 e 1000mg/Kg de peso corpóreo (p.c.) via oral (v.o.). As doses foram definidas a partir do estudo de Silva et al. (2016), em que a dose de 100 mg/kg foi efetiva para efeitos anti-inflamatórios. A partir desta dose, foi definida a dose 10x maior do que aquela que tem a atividade desejada, seguindo a recomendação dos guidelines da área (ANVISA, 2010; OECD 423, 2001), pois, se a dose 10x maior for segura em estudos pré-clínicos essa é considerada segura para uso em humanos.

2.3 Animais e condições ambientais

Foram utilizados camundongos machos e fêmeas (*Mus musculus*) da linhagem Swiss cedidos pelo Biotério Central do Instituto de Biociências (INBIO) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Os animais passaram por um período de adaptação de 7 dias. Os animais foram alocados em mini-isoladores de propileno, em Rack Ventilado Alesco®, forrados com maravalha de *Pinus sp.* autoclavada. As fêmeas foram alocadas em dupla e os machos isolados. Todos os animais foram alimentados com ração comercial padrão (Nuvital®) e água filtrada sob sistema de livre acesso durante o período. A luz foi controlada usando-se ciclo de luz de 12h (12 h claro/ 12 h escuro) e a temperatura foi mantida em $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$. O experimento foi conduzido de acordo com as Normas da CEUA/CONCEA e após aprovação do CEUA/UFMS de número #965/2018.

2.4 Delineamento Experimental

Foram utilizados 45 camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss de ambos os sexos (15 machos; 30 fêmeas) em idade reprodutiva (6 - 8 semanas). Os animais foram submetidos ao cruzamento *overnight*, na proporção de 2 fêmeas: 1 macho, e a detecção da prenhez foi realizada por meio da observação do *plug* vaginal sendo este dia considerado o dia zero de gestação (RABELO-GAY et al., 1991). Os grupos experimentais foram: Controle - os animais foram tratados com o

veículo do extrato (água ultrapura) na proporção de 0,1mL/10g; Grupos EECx – os animais receberam o EECx em duas diferentes doses (100 e 1000 mg/kg, respectivamente), do 1º ao 18º dia gestacional (d.g.). O número experimental (n) foi de 10 fêmeas prenhes Swiss por grupo.

2.4.1 Ensaios Biológicos

As coletas de sangue periférico para as avaliações toxicogenéticas, por meio do ensaio de micronúcleo, foram realizadas em três tempos distintos: 16º (T1), 17º (T2) e 18º (T3) d.g. No 18º d.g., os animais foram submetidos à eutanásia, por deslocamento cervical, seguida de laparotomia, histerectomia e onfalectomia para a coleta, pesagem e devido armazenamento dos órgãos (pulmão, coração, baço, fígado, rins, placenta) e fetos, para análise posterior. Um terço do baço foi destinado à avaliação da fagocitose esplênica.

Os fetos retirados foram pesados e passaram por análise sistemática de malformações externas e sexagem. Em seguida, foram distribuídos aleatoriamente em dois subgrupos, cada um com 50% da ninhada. Os fetos do primeiro grupo foram fixados em solução de Boudians (142 mL de água destilada, 50 mL de ácido acético, 50 mL de formaldeído e 758 mL de álcool 95%) por pelo menos sete dias e destinados à análise visceral, por meio de microdissecção com cortes estratégicos, para o estudo de tórax e abdômen, propostos por Barrow e Taylor (1969), e para estudo da cabeça segundo Wilson (1965), com alterações propostas por Oliveira et al. (2005a), Damasceno et al. (2008), Oliveira et al. (2009) e Oliveira et al. (2015). A classificação das alterações viscerais foi baseada, principalmente, nos trabalhos de Taylor (1986), Manson e Kang (1994), Damasceno et al. (2008), Oliveira et al. (2009) e Oliveira et al. (2015a). A nomenclatura das malformações segue o indicado por Wise et al. (1997).

Os fetos do segundo subgrupo foram fixados em acetona pura por pelo menos sete dias e destinados à análise esquelética, pela técnica descrita por Staples e Schnell (1964) e modificada por Oliveira et al. (2009). Após a fixação, os fetos foram eviscerados para o processo de diafanização em solução de KOH (0,8%). Em seguida, foram adicionadas quatro gotas de alizarina. Esta solução foi trocada a cada 24 horas por quatro dias consecutivos. Depois dos fetos corados, a solução de KOH foi substituída pela solução clareadora (1L de glicerina, 1L de álcool etílico e 500 mL de álcool benzílico) e trocada a cada 24 horas, durante cinco dias.

As classificações foram realizadas segundo Taylor (1986), Manson et al. (1982), Damasceno et al. (2008), Oliveira et al. (2009) e Oliveira et al. (2015). A nomenclatura das malformações segue o indicado por Wise et al. (1997).

As análises de vísceras e esqueléticas fetais foram realizadas em lupa estereomicroscópica (Nikon® – SMZ 745T) com aumento de 4 vezes.

2.4.2 Parâmetros biométricos

Os cálculos de parâmetros biométricos foram feitos a partir dos dados de Peso Inicial (fêmeas pesadas no primeiro dia de tratamento), Peso Final (fêmeas pesadas no dia da eutanásia - 18º d.g.), Ganho de Peso (peso final menos o peso inicial), Peso do Útero e Peso Líquido (ganho de peso menos o peso do útero). Além dos dados de pesos absolutos e relativos dos órgãos (peso do órgão / peso final).

2.4.3 Desempenho Reprodutivo e Desenvolvimento Embriofetal

Foram contados e calculados os parâmetros reprodutivos: Número de Implantes (n° de fetos vivos + n° de reabsorções); Fetos vivos; Viabilidade Fetal (n° de fetos vivos $\times 100 / n^\circ$ de implantes); Taxa de Perdas Pós-implantacionais (n° de implantes – n° de fetos vivos $\times 100 / n^\circ$ de implantações); Reabsorção; Taxa de Reabsorção (n° de reabsorções $\times 100 / n^\circ$ de implantes); Peso Placentário; Peso Fetal; Índice Placentário (peso placentário / peso fetal); Razão Sexual (número de fetos machos $\times 100 /$ número de fetos fêmeas). Foram feitas duas classificações do peso fetal à idade gestacional (CPFIG): Segundo Soulimane-Mokhtari et al. (2005) e segundo Oliveira et al. (2009).

Para a classificação de Soulimane-Mokhtari et al. (2005), os fetos são classificados como Adequados para a Idade Gestacional (AIG) quando apresentarem peso corporal até 1,7 desvios padrão em relação à média dos fetos do grupo controle. E serão considerados Pequenos para a Idade Gestacional ou Grandes para a Idade Gestacional (GIG) quando apresentarem peso corporal inferior ou superior, respectivamente, a 1,7 desvios padrão em relação à média do grupo controle. Já segundo Oliveira et al. (2009), após o cálculo da média e do desvio padrão do peso da prole do grupo controle. O desvio padrão é subtraído e somado a média. Assim, se o peso médio fetal da prole dos grupos tratados estiver nesse intervalo os mesmos são considerados adequados para a idade gestacional. Se o peso for inferior ou superior ao limite mínimo, os fetos serão considerados

baixo peso para a idade gestacional ou alto peso para a idade gestacional, respectivamente.

2.4.4 Ensaio do Micronúcleo em Sangue Periférico

A técnica utilizada para o desenvolvimento do ensaio foi baseada na descrição de Carvalho et al. (2015). Por punção da veia caudal, foram coletados 20µL de sangue periférico, depositados em uma lâmina previamente corada com Alaranjado de Acridina (1mg/mL) e em seguida recoberta por lamínula. O material permaneceu armazenado em freezer (-20°C) por um período mínimo de quinze dias e foi avaliado em microscópio de fluorescência (Motic®; Modelo BA 410) no aumento de 400x, com filtro de excitação 420-490nm e filtro de barreira 520nm. Foram analisadas 2000 células/animal/tempo.

2.4.5 Ensaio de fagocitose esplênica

Um terço do baço foi macerado em 500µL de solução fisiológica. Foram coletados 100µL da suspensão celular, depositados em lâmina previamente corada com Alaranjado de Acridina (1mg/mL) e coberta por lamínula. As lâminas foram armazenadas em freezer (-20°C), por no mínimo 15 dias, para serem posteriormente analisadas. A análise foi feita em microscópio de fluorescência (Motic®; Modelo BA 410) no aumento de 400x, com filtro de 420-490nm e filtro de barreira de 520nm. Foram analisadas 200 células/lâmina/animal. A ausência ou presença de fagocitose foi baseada na descrição de Hayashi et al. (1990) com modificações de Navarro et al. (2014).

2.5 Análise estatística

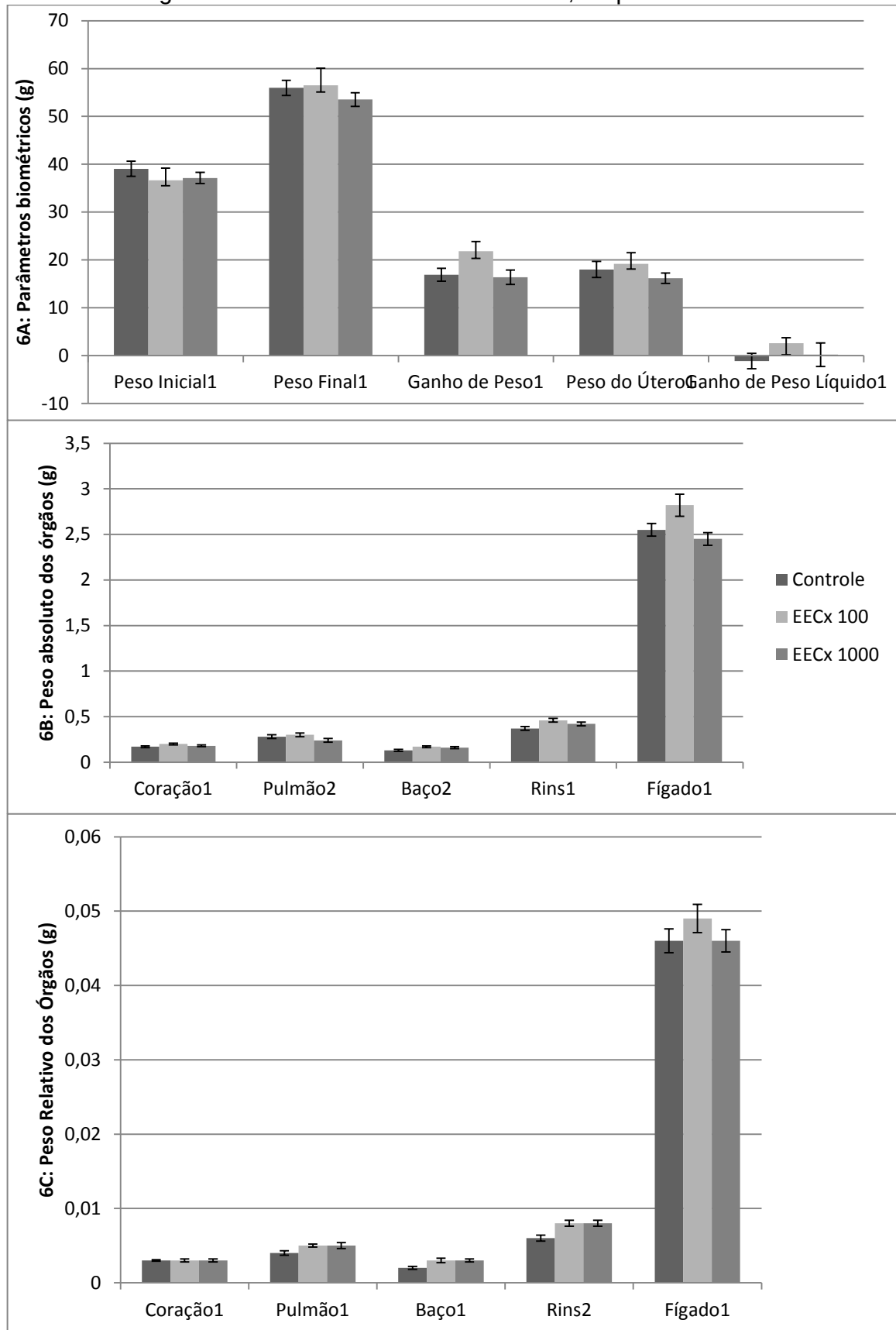
Os dados foram apresentados em média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Utilizou-se o teste ANOVA/Tukey para dados paramétricos, o teste Kruskal-Wallis/Dunn para dados não paramétricos e o teste do Qui-quadrado para comparações de frequências entre os grupos. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação dos parâmetros biométricos

A análise dos resultados mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) para os parâmetros biométricos de peso inicial, peso final, ganho de peso, peso do útero e ganho de peso líquido. O peso absoluto coração, pulmão e fígado; bem como o peso relativo do coração, pulmão, baço, rins e fígado, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Já o peso absoluto do baço e dos rins aumentaram ($p<0,05$) no grupo EECx 100 mg/kg em relação ao grupo controle (Figura 6).

Figura 6 - 6A: Parâmetros biométricos das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx). 6B e 6C: Peso absoluto e relativo dos órgãos das fêmeas tratadas com EECx, respectivamente.



g – gramas. Teste: ¹ANOVA/Tukey, ²Kruskal-Wallis/Dunn; p>0,05.

3.2 Avaliação do desempenho reprodutivo

O número de implantes, fetos vivos, viabilidade fetal, taxa de perdas pós-implantacionais, reabsorção, taxa de reabsorção, razão sexual e índice placentário não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p>0,05$). Observou-se aumento significativo ($p<0,05$) do peso placentário em ambas doses testadas e também no peso fetal do grupo EECx 100 mg/kg.

A respeito da classificação do peso segundo a idade gestacional, de acordo com Soulimane-Mokhtari et al. (2005), os fetos de ambos os grupos EECx foram classificados como grandes para a idade gestacional (GIG) e apenas o grupo EECx 100 mg/kg apresentou diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) em relação ao grupo controle. Nesse grupo observou-se redução significativa da porcentagem de animais PIG e consequente aumento significativo de animais GIG. A respeito da classificação do peso segundo a idade gestacional, de acordo com Oliveira et al. (2009), os fetos de ambos os grupos EECx também foram classificados como grandes para a idade gestacional (GIG) (Tabela 1).

Tabela 1- Parâmetros reprodutivos das fêmeas prenhes tratadas com o extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx).

Parâmetros	Grupos Experimentais		
	Controle	EECx 100 mg/kg	EECx 1000 mg/kg
Implantes ¹	14,10 ± 1,21 ^a	13,89 ± 1,76 ^a	11,30 ± 1,27 ^a
Fetos vivos ¹	12,30 ± 0,97 ^a	12,11 ± 1,58 ^a	10,00 ± 1,12 ^a
Viabilidade Fetal ²	89,92 ± 5,25 ^a	88,65 ± 4,51 ^a	87,65 ± 3,60 ^a
TPPI ²	10,07 ± 5,25 ^a	11,35 ± 4,52 ^a	12,35 ± 3,60 ^a
Reabsorção ²	1,80 ± 1,05 ^a	1,78 ± 0,86 ^a	1,00 ± 0,21 ^a
Taxa de reabsorção ²	10,07 ± 5,25 ^a	11,35 ± 4,52 ^a	10,59 ± 3,06 ^a
Razão sexual ¹	156,33 ± 17,24 ^a	189,81 ± 30,55 ^a	123,14 ± 21,99 ^a
Peso placentário ²	0,07 ± 0,002 ^a	0,08 ± 0,002 ^b	0,08 ± 0,002 ^b
Peso fetal ²	1,15 ± 0,017 ^a	1,27 ± 0,012 ^b	1,19 ± 0,021 ^a
CPFIG ^A		GIG	GIG
%PIG ³	39,84	11,01*	35,00
%AIG ³	9,75	7,34	6,00
%GIG ³	50,41	81,65*	59,00
CPFIG ^B		GIG	GIG
Índice placentário ²	0,06 ± 0,002 ^a	0,06 ± 0,002 ^a	0,07 ± 0,002 ^a

Legenda: TPPI = taxa de perda pós-implantacional; CPFIG^A - classificação do peso fetal segundo a idade gestacional segundo Soulimane-Mokhtari et al. (2005); PIG - pequenos para a idade gestacional; AIG - adequados para idade gestacional; GIG - grandes para a idade gestacional; CPFIG^B - classificação do peso fetal segundo a idade gestacional segundo Oliveira et al. (2009). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas. *Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. (Test: ¹ANOVA/Tukey; ²Kruskall-Wallis/Dunn; $p<0,05$. ³Qui-quadrado; $p<0,05$).

3.3 Avaliação do desenvolvimento embriofetal

As malformações externas observadas foram cauda em vírgula, retroversão de pata anterior unilateral, retroversão de pata posterior uni- e bilateral, escoliose e hidropsia. A frequência de alterações foram semelhantes em todos os grupos ($p>0,05$), exceto para a frequência de cauda em vírgula que estava reduzida no grupo EECx 100 mg/kg ($p<0,05$). Logo, sugere-se que essas alterações são variantes da normalidade (Tabela 2).

Tabela 2 - Malformações externas encontradas na prole das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx).

Malformações	Grupos Experimentais					
	Controle		EECx 100 mg/kg		EECx 1000 mg/kg	
Ninhadas Analisadas (NA)	10		9		10	
Fetos Analisados (NA)	Malformações Externas					
	123		109		100	
	NA	%	NA	%	NA	%
Cauda em vírgula	7	5,69	0*	0,00	1	1,00
Retroversão Posterior Unilateral	12	9,76	6	5,50	3	3,00
Retroversão Posterior Bilateral	0	0,00	2	1,83	1	1,00
Retroversão Anterior Unilateral	1	0,81	0	0,00	0	0,00
Escoliose	0	0,00	0	0,00	2	2,00
Hidropsia	0	0,00	1	0,92	1	1,00

Legenda: NA = número absoluto; % = porcentagem. *Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (Teste: Qui-quadrado; $p<0,05$).

As malformações viscerais encontradas foram hidrocefalia de grau leve, polioftalmia, aurícula reduzida, lobos pulmonares reduzidos, micronefria, hidronefrose de graus leve e moderado, e bexiga dilatada. O tratamento com EECx 100mg/kg determinou o aumento significativo ($p<0,05$) de hidronefrose. Para as demais malformações a ocorrência foi semelhante em todos os grupos ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Malformações viscerais encontradas na prole das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx).

Malformações	Grupos Experimental					
	Controle		EECx 100 mg/kg		EECx 1000 mg/kg	
Ninhadas Analisadas (NA)	10		9		10	
	Malformações Viscerais					
Fetos Analisados (NA)	63		57		51	
	NA	%	NA	%	NA	%
Hidrocefalia leve	21	33,33	11	19,30	9	17,65
Hidronefroze leve	22	34,92	8*	14,03	15	29,41
Hidronefroze moderada	4	6,35	1	1,75	3	5,88
Hidronefroze (soma)	26	41,27	9*	15,79	18	35,29
Polioftalmia unilateral	0	0,00	2	3,51	0	0,00
Aurícula reduzida	11	17,46	7	12,28	13	25,449
Lobos pulmonares reduzidos	0	0,00	2	3,51	0	0,00
Micronefria	1	1,59	3	5,26	2	3,92
Bexiga dilatada	1	1,59	0	0,00	0	0,00

Legenda: NA = número absoluto; % = porcentagem, *Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. (Teste: Qui-quadrado; $p < 0,05$).

As malformações esqueléticas encontradas foram ossificação reduzida do vômer, do palato, do presfenoide, do nasal e do processo xifoide; ossificação incompleta do processo xifoide, do centro esternal, e do manúbrio; e ossificação rudimentar unilateral da 7ª costela cervical. O tratamento com EECx aumentou a frequência ($p < 0,05$) de ossificação reduzida do nasal. Também foi observado que o EECx na dose de 100mg/kg melhorou ($p < 0,05$) a ossificação do processo xifoide em comparação com o grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4 - Malformações esqueléticas encontradas na prole das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx).

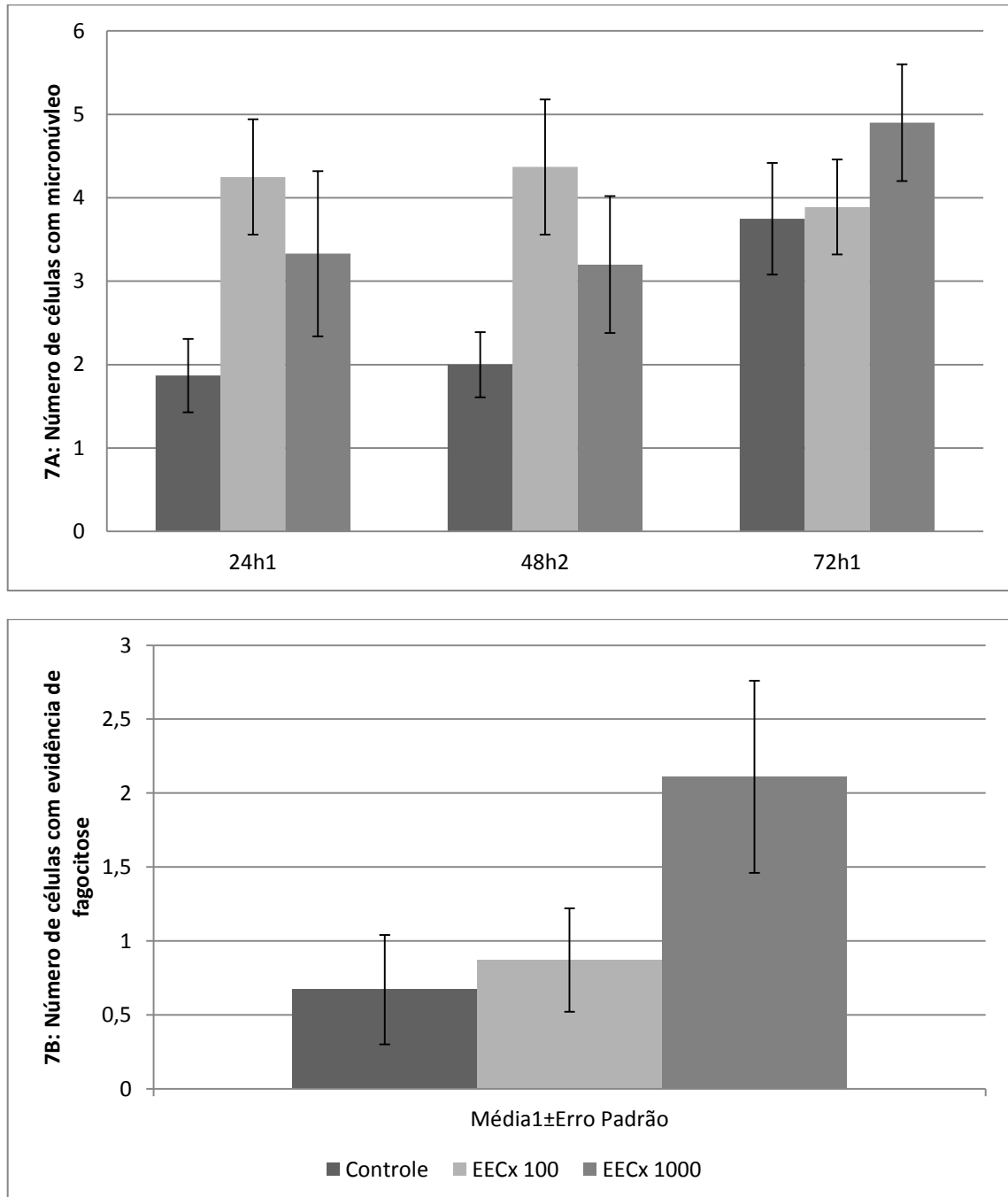
Malformações	Grupos Experimentais					
	Controle		EECx 100 mg/kg		EECx 1000 mg/kg	
	10		9		10	
Ninhadas Analisadas (NA)	Malformações Esqueléticas					
Fetos Analisados (NA)	60		54		49	
	NA	%	NA	%	NA	%
OR Volmer	57	95,00	49	90,74	47	95,92
OR Palato	57	95,00	49	90,74	47	95,92
OR Presfenoide	57	95,00	48	88,89	47	95,92
OR Nasal	13	21,67	24*	44,44	25*	51,02
OI Processo Xifoide	1	1,67	0	0,00	0	0,00
OR Processo Xifoide	9	15,00	1*	1,85	9	18,37
OI Centro Estial	2	3,33	2	3,70	3	6,12
OR Centro Estial	8	13,33	1	1,85	7	14,29
ORu unilateral 7ª Costela cervical	0	0,00	0	0,00	2	4,08
OI Manúbrio	0	0,00	1	1,85	0	0,00

Legenda: NA = número absoluto; % = porcentagem; OR = ossificação reduzida; OI = ossificação incompleta; ORu = Ossificação rudimentar; *Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. (Teste: Qui-quadrado; $p < 0,05$).

3.4 Avaliação toxicogenética

O EECx não aumentou a frequência de danos cromossômicos (Figura 7A) e nem a fagocitose esplênica (Figura 7B) em relação ao grupo Controle. A frequência de micronúcleos para os grupos Controle, EECx 100mg/kg e EECx 1000mg/kg variaram de $1,87 \pm 0,44$ a $4,90 \pm 0,57$ e a fagocitose esplênica de $0,67 \pm 0,37$ a $2,11 \pm 0,65$.

Figura 7 - 7A: Ensaio do micronúcleo em sangue periférico realizado em fêmeas tratadas com extrato etanólico de *Campomanesia xanthocarpa* (EECx). 7B: Ensaio de fagocitose esplênica realizado em fêmeas tratadas com EECx.



Teste: ¹Análise de Variância/Tukey; ² Kruskal-Wallis/Dunn; $p > 0,05$.

4 DISCUSSÃO

Os nossos resultados demonstram que o extrato etanólico das folhas de *C. xanthocarpa* não alterou o peso final, o ganho de peso e o ganho de peso líquido de camundongos *Swiss* fêmeas prenhes. Tais resultados sugerem segurança de uso uma vez que a perda de peso pode ser considerada um importante indicativo de toxicidade aguda (KLAASSEN e WATKINS III, 2009; SAAD et al., 2002; DAMASCENO et al., 2002; FREITAS et al., 2005; BRUGUIOLO et al., 2010; CUNHA-LAURA et al., 2013, AUHAREK et al., 2013).

Da mesma forma, alterações nos pesos absolutos e/ou relativos dos órgãos, principalmente nos relativos, são também considerados importantes sinais de toxicidade (DAMASCENO et al., 2002; FREITAS et al., 2005; BRUGUIOLO et al., 2010; CUNHA-LAURA et al., 2013, AUHAREK et al., 2013). Assim, a ausência de diferenças significativas para tais parâmetros nesse estudo corrobora mais uma vez a segurança de uso do EECx. Destaca-se ainda que o peso relativo faz uma correção do peso do órgão em relação ao peso (tamanho) do animal e, portanto, diferenças significativas no peso absoluto podem ser decorrentes somente do tamanho do animal e não devido ao tratamento. Nesses casos as diferenças não são mais observadas quando se faz a avaliação do peso relativo. Esse fato foi o observado para o peso do baço e rins das fêmeas tratadas com EECx.

Reforçam a segurança de uso de extratos das folhas de *C. xanthocarpa* os estudos de Markman, Bacchi e Kato (2004) e Da Silva et al. (2016) que também não observaram toxicidade em ratos *Wistar*. De acordo com Markman, Bacchi e Kato (2004), ratos tratados com o extrato hidroalcólico das folhas de *C. xanthocarpa* na dose de 400mg/kg não apresentaram sinais de toxicidade. Já o estudo de Da Silva et al. (2016) avaliou a toxicidade aguda também em ratos *Wistar* e a dose de 2000mg/kg não apresentou toxicidade. Assim, era esperado que em nosso estudo também não encontrássemos toxicidade materna mesmo sendo o estudo feito em camundongos. Em geral, os estudos mostram similaridade de resultados para toxicologia quando usados tanto ratos como camundongos (POOLE, 1999).

Além da ausência de toxidade materna, o nosso estudo demonstra que o EECx também não alterou o desempenho reprodutivo de fêmeas prenhes. Tais afirmativas são sustentadas pela ausência de variações significativas nos parâmetros reprodutivos referente ao número de implantes, fetos vivos, viabilidade

fetal, taxa de perdas pós-implantacionais, reabsorção, taxa de reabsorção e razão sexual e índice placentário.

Em estudo de Auharek et al. (2013), realizado em ratos *Wistar* tratados com extrato aquoso das folhas de *C. Xanthocarpa*, não foram observadas alterações na função reprodutiva bem como na frequência de malformações externas. Nossos dados corroboram esse estudo. No entanto, nosso estudo é pioneiro em acrescentar à literatura da área que o EECx não altera o desenvolvimento embriofetal visto que realizamos todo o estudo de malformações viscerais e esqueléticas e as frequências não variaram de forma estatisticamente significativas se comparados os grupos tratados com EECx e o grupo controle, exceto para as frequências de hidrocefalia e ossificação reduzido do nasal. No entanto, no contexto geral dos resultados desse estudo, que não indicam nenhum outro dano e/ou toxicidade, essas frequências podem ser consideradas variantes da normalidade.

Variantes da normalidade são aquelas alterações que ocorrem de forma similar entre os grupos controle e tratados; ou aquelas que podem ocorrer em função da interrupção da gestação precocemente e que, portanto, poderiam regredir se a gestação chegasse a termo (TAYLOR, 1986; GONÇALVES et al., 2013; DAVID et al., 2014). Exemplo disso é a redução do processo de ossificação de um (ou alguns) osso(s) em específico; visto que algumas horas para o desenvolvimento dos ossos de fetos podem significar a ossificação de grandes extensões. No entanto, quando ocorre atraso/redução nos processos de ossificação de forma generalizada há de se supor que isso ocorra em função do produto em teste. As variantes da normalidade também podem se tratar, por exemplo, de hidrocefalias ou hidronefroses de grau leve. Nesses casos é sabido que com o avanço da gestação ocorre redução dos líquidos nessas cavidades e, portanto, quando a gestação chega a termo e os órgãos estão maduros para o funcionamento essas alterações podem regredir completamente (TAYLOR, 1986; GONÇALVES et al., 2013; DAVID et al., 2014). Assim, a literatura apoia a hipótese de que tais alterações de menor importância para a viabilidade do feto podem regredir com a continuação da gestação (OLIVEIRA et al., 2009; TAYLOR, 1986).

Quando avaliado o peso fetal e placentário verificou-se que o primeiro mostrou aumentado no grupo que recebe a menor dose de EECx e o peso placentário em todos os grupos tratados como EECx. Em geral, produtos que são embio- ou fetotóxicos privam os conceitos em desenvolvimento de nutrientes e

oxigenação. Como resposta a esse fato há hipertrofia da placenta na tentativa de suprir as necessidades e manter o crescimento adequado do embrião/feto (DAVID et al., 2014; ERIKSSON; JANSSON, 1984; GONÇALVES et al., 2013). Com isso ocorre aumento do índice placentário (DAVID et al., 2014; ERIKSSON; JANSSON, 1984; GONÇALVES et al., 2013).

Apesar desses relatos da literatura o que se verificou no presente estudo é que houve aumento do peso fetal e da placenta. Mas, sem alterar o índice placentário. Nesse caso supõe que os fetos não foram privados em suas necessidades básicas de nutrição e oxigênio. Logo, não foram observadas alterações tóxicas que influenciasse no desenvolvimento embriofetal.

Apesar de o peso fetal estar aumentado estatisticamente somente no grupo que recebeu a menor dose de EECx ao se fazer a classificação do peso a idade gestacional todos os grupos tratados com EECx apresentaram prole grande para a idade gestacional mesmo sem alterar o índice placentário. Para esse estudo utilizou-se tanto a classificação de Souliname-Monktari et al. (2005) quanto a de Oliveira et al. (2009). Em ambos os casos, a classificação é a mesma apesar de usar métodos diferentes para se chegar à mesma conclusão. Logo, as proles de mães tratadas com EECx possuem fetos grandes para a idade gestacional. Apesar de não haver classificado do peso à idade gestacional, Auharek et al. (2013) relatou aumento do peso fetal em ratos tratados com *C. xanthocarpa*.

Outro fato que reforça a segurança do uso do EECx é a ausência de danos genotóxicos avaliados pelo ensaio de micronúcleos. Esses danos cromossômicos, geralmente, estão associados com xenobióticos que podem causar câncer se os danos acontecerem em células somáticas (DIETZ et al., 1992). Além disso, se as lesões forem em células germinativas podem predispor a prole à embrioletalidade, síndromes e/ou malformações (MARQUARDT et al., 1999; KLAASSEN, 1995). No entanto, se as lesões forem em células germinativas de um conceito em desenvolvimento pode causar malformações e atraso no desenvolvimento, por exemplo (KLAASSEN e WATKINS, 2001). Confirma a ausência de danos toxicogenéticos e, portanto, corrobora a segurança de uso, a baixa frequência de fagocitose esplênica. Em geral, a ativação da fagocitose esplênica ocorre em resposta ao aumento da frequência de células micronucleadas na corrente sanguínea visto que esse órgão é capaz de sequestrar células com lesões de DNA

(CARVALHO et al., 2015; HAYASHI et al., 1990; NAVARRO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015b).

5 CONCLUSÃO

Frente ao exposto considera-se que o EECx não causa toxicidade materna, não altera o desempenho reprodutivo e nem o desenvolvimento embriofetal. Além disso, o EECx não causa lesões cromossômica e nem ativação da fagocitose esplênica. Esses resultados permitem inferir que o EECx é seguro para uso, de acordo com o presente delineamento, inclusive durante o período gestacional.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALICE, C. B., SIQUEIRA, N. C. S., MENTZ, L. A., BRASIL, G. A. A. S., JOSÉ, K. F. D. Plantas Medicinais de Uso Popular: Atlas Farmacognóstico. Ulbra, Canoas 205p. 1995.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília. 2010.

AUHAREK, S.A.; DO CARMO VIEIRA, M.; CARDOSO, C.A.L.; OLIVEIRA, R.J.; CUNHA-LAURA, A. L. Reproductive toxicity of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) in female Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 148, p. 341-343, 2013.

BARROW, M. V., TAYLOR, W. J. A rapid method for detecting malformation in rat fetuse. *Journal of Morphology*, v. 127, n. 3, p. 291-305, 1969.

BIAVATTI, M. W., FARIAS, C., CURTIUS, F., BRASIL, L. M., HORT, S., SCHUSTER, L., PRADO, S. R. T. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 93, n. 2-3, p. 385-389, 2004.

BRANDELLI, C. L. C., VIEIRA, P. D. B., MACEDO, A. J., TASCA, T. Remarkable anti-trichomonas vaginalis activity of plants traditionally used by the Mbyá-Guarani indigenous group in Brazil. *BioMed research international*, v. 2013, 2013.

BRUGIOLO, S.S.S.; Peters, V.M.; Pimenta, D.S.; Aarestrup, B.J.V.; Brugiolo, A.S.S.; Ribeiro, D.M.; Ribeiro, D.M.; de Oliveira Guerra, M. Reproductive toxicity of *Echinodorus grandiflorus* in pregnant rats. *The Journal of Toxicology Science*, v. 35, p. 911-922, 2010.

CARVALHO, P.C., SANTOS, E.A., SCHNEIDER, B.U.C., MATUO, R., PESARINI, J.R., CUNHA-LAURA, A.L., MONREAL, A.C.D., LIMA, D.P., BROCHADO-ANTONIOLLI, A.C.M., OLIVEIRA, R.J., 2015. Diaryl sulfide analogs of combretastatin A-4: Toxicogenetic, immunomodulatory and apoptotic evaluations and prospects for use as a new chemotherapeutic drug. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40, 715-721.

CRAVO, A. B., 1994. Frutas e ervas que curam: panacéia vegetal, fourth ed. Hemus, São Paulo, p. 438.

CUNHA-LAURA, A.L.; OLIVEIRA, R.J.; CARDOSO, C.A.L.; VIEIRA, M.C.; AUHAREK, S.A. Absence of interceptive effect in female Wistar rats exposed to *Jacaranda decurrens* during organogenesis period. *VRI Phytomedicine*, v. 1, p. 21-26, 2013.

DA SILVA, É. R. S. SALMAZZO, G. R., DA SILVA ARRIGO, J., OLIVEIRA, R. J., KASSUYA, C. A. L., CARDOSO, C. A. L. Anti-inflammatory Evaluation and Toxicological Analysis of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. *Inflammation*, v. 39, n. 4, p. 1462-1468, 2016.

DAMASCENO, D.C., KEMPINAS, W.G., VOLPATO, G.T., CONSONNI, M., RUDGE, M.V.C., PAUMGARTTEN, F.J.R. Anomalias congênitas: estudos experimentais. Coopmed Editora Médica, Belo Horizonte, 2008.

DAVID, N.DE.; MAURO, M.O.; GONÇALVES, C.A.; PESARINI, J.R.; STRAPASSON, R.L.B.; KASSUYA, C.A.L.; STEFANELLO, M.É.A.; CUNHA-LAURA, A.L.; MONREAL, A.C.D.; OLIVEIRA, R.J. *Gochnatia polymorpha* ssp. *floccosa*: Bioprospecting of an anti-inflammatory phytotherapy for use during pregnancy. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 154, p. 370-379, 2014.

D'ÁVILA, M. C., 1990. Da flora medicinal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Thesis. Faculdade Livre de Medicina e Pharmacia de Porto Alegre, p. 155.

DIETZ, J.; DIEHL, A. S.; PROLLA, J. C.; FURTADO, C. D.; FURTADO, A. D. Pesquisa de micronúcleos na mucosa esofágica e sua relação com fatores de risco ao câncer do esôfago. *Rev Assoc Med Bras* 1992; 46(3):207-211.

ERIKSSON, U.J.; JANSSON, L. Diabetes in pregnancy: decreased placental blood flow and disturbed fetal developmental in the rat. *International Pediatric Research*, v. 18, p. 735–738, 1984

FREITAS, T.G.; AUGUSTO, P.M.; MONTANARI, T. Effect of *Ruta graveolens* L. on pregnant mice. *Contraception*, v.71, p.74–77, 2005.

GONÇALVES, C.A.; SIQUEIRA, J.M.; CAROLLO, C.A.; MAURO, M.O.; DAVID, N.; CUNHA-LAURA, A.L.; MONREAL, A.C.D.; CASTRO, A.H.; FERNANDES, L.; CHAGAS, R.; AUHAREK, S.A.; OLIVEIRA, R.J. Gestational exposure to *Byrsonima verbascifolia*: Teratogenicity, mutagenicity and immunomodulation evaluation in female Swiss mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 150, p. 843-850, 2013.

HAYASHI, M., MORITA, T., KODAMA, Y., SOFUNI, T., ISHIDATE JR, M. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutation Research Letters*, v. 245, n. 4, p. 245-249, 1990.

KLAASSEN, C. D. E WATKINS, J. B. *Toxicologia de Casarett e Doull's – A Ciência Básica dos Tóxicos*. 5ª ed. Lisboa: McGraw-Hill, 2001.

KLAASSEN, C.D., WATKINS III, J.B., 2009. *Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange)*. AMGH Editora.

KLAFKE, J. Z., DA SILVA, M. A., PANIGAS, T. F., BELLI, K.C., DE OLIVEIRA, M. F., BARICHELO, M. M., RIGO, F. K., ROSSATO, M. F., SANTOS, A. R. S., PIZZOLATTI, M. G., FERREIRA, J., VIECILI, P. R. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. *Journal of ethnopharmacology*, v. 127, n. 2, p. 299-305, 2010.

KLAFKE, J. Z., SILVA, M. A., ROSSATO, M. F., TREVISAN, G., WALKER, C. I. B., LEAL, C. A. M., BORGES, D. O., SCHETINGER, M. R. C., MORESCO, R. N., DUARTE, M. M. F., SANTOS, A. R. S., VIECILI, P. R. N., FERREIRA, J. Antiplatelet, antithrombotic, and fibrinolytic activities of *Campomanesia*

xanthocarpa. Evidence-based complementary and alternative medicine, v. 2012, 2012.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum 352p, v. 4, 1992.

MANSON, J. M., KANG, Y. J. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. Principles and Methods of Toxicology, v. 27, p. 989-1034, 1994.

MANSON, J. M., ZENICK, H., COSTLOW, R. D. Teratology test methods for laboratory animals. Principles and methods of toxicology, p. 141-184, 1982.

MARKMAN, B. E. O., BACCHI, E. M., KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of Campomanesia xanthocarpa. Journal of Ethnopharmacology, v. 94, n. 1, p. 55-57, 2004.

MARQUARDT, H.; SCHÄFER, S. G.; MCCLELLAN, R.; WELSCH, F. Toxicology. USA: Academic Press, 1999.

NAVARRO, S. D., BEATRIZ, A., MEZA, A., PESARINI, J. R., GOMES, R. S., KARAZIACK, C. B., CUNHA-LAURA, A. L., MONREAL, A. C. D., RAMÃO, W., LACERDA JR., V., MAURO, M. O. A new synthetic resorcinolic lipid 3-Heptyl-3, 4, 6-trimethoxy-3H-isobenzofuran-1-one: evaluation of toxicology and ability to potentiate the mutagenic and apoptotic effects of cyclophosphamide. European journal of medicinal chemistry, v. 75, p. 132-142, 2014.

OECD - Organisation for Economic Co-Operation and Development. Guideline 423: acute oral toxicity-acute toxic class method. OECD guidelines for the testing of chemicals (section 4: health effects), Paris, 1-14. 2001.

OLIVEIRA, R. J., NAVARRO, S. D., DE LIMA, D. P., MEZA, A., PESARINI, J. R., GOMES, R. S., KARAZIACK, C. B., MAURO, M. O., CUNHA-LAURA, A. L., MONREAL, ACD, ROMÃO, W., LACERDA JR., V., BEATRIZ, A. A novel cytosporone 3-Heptyl-4, 6-dihydroxy-3 H-isobenzofuran-1-one: synthesis; toxicological, apoptotic and immunomodulatory properties; and potentiation of mutagenic damage. BMC Cancer, v. 15, n. 1, p. 561, 2015b.

OLIVEIRA, R. J., OLIVA, S. U., DAROZ, G. A., RUBIO, E. M. Fertility assessment and possible external structural defects on progeny from male rats chronically exposed to arsenic. Revista Brasileira de Toxicologia, v. 18, n. 1, p. 57, 2005.

OLIVEIRA, R. J., SALLES, M. J. S., DA SILVA, A. F., KANNO, T. Y. N., DOS SANTOS LOURENÇO, A. C., FREIRIA, G. A., MATIAZI, H. Z., RIBEIRO, L. R., MANTOVANI, M. S. Effects of the polysaccharide β -glucan on clastogenicity and teratogenicity caused by acute exposure to cyclophosphamide in mice. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 53, n. 3, p. 164-173, 2009.

OLIVEIRA, R.J.; MANTOVANI, M.S.; PESARINI, J.R.; MAURO, M.O.; DA SILVA, A.F.; SOUZA, T.R.; RIBEIRO, L.R. 6-Dimethylaminopurine and cyclohexamide are mutagenic and alter reproductive performance and intrauterine development in vivo. Genetics and Molecular Research, v. 14, p. 834-849, 2015a.

OTERO, J. S., HIRSCH, G. E., KLAFKE, J. Z., PORTO, F. G., DE ALMEIDA, A. S., NASCIMENTO, S., SCHMIDT, A., SILVA, B., PEREIRA, R. L. D., JASKULSKI, M., PARISI, M. M., GUARDA, N. S., MORESCO, R. N., AITA, C. A. M., VICIELI, P. R. N. Inhibitory effect of *Campomanesia xanthocarpa* in platelet aggregation: Comparison and synergism with acetylsalicylic acid. *Thrombosis research*, v. 154, p. 42-49, 2017.

PADILLA, M. A., SIMONI, I. C., HOE, V. M. H., FERNANDES, M. J. B., ARNS, C. W., BRITO, J. R., LAGO, J. H. G. In vitro antiviral activity of Brazilian Cerrado plant extracts against animal and human herpesviruses. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 12, n. 10, p. 106-115, 2018.

POOLE, T. B. *The UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals*. London: Longman Scientific & Technical; 1999.

RABELO-GAY, M.N.; RODRIGUES, M.A.L.R.; MONTELEONE-NETO R. Mutagênese, teratogênese e Carcinogênese: Métodos e Critérios de Avaliação. *Sociedade Brasileira de Genética*, p. 241, 1991.

SAAD, E. D., HOFF, P. M., CARNELÓS, R. P., KATZ, A., NOVIS, Y. A., PIETROCOLA, M., HAMERSCHLAK, N., TABACOF, J., GANSL, R. C., SIMON, S. D. Critérios comuns de toxicidade do Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos. *Rev Bras Cancerol*, 48, 63-96. 2002.

SOULIMANE-MOKHTARI, N. A., GUERMOUCHE, B., YESSOUFOU, A., SAKER, M., MOUTAIROU, K., HICHAMI, A., KHAN, N. A. Modulation of lipid metabolism by n- 3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring. *Clinical Science*, v. 109, n. 3, p. 287-295, 2005.

STAPLES, R.E., SCHENELL, V. L. Refinements in rapid clearing technic in the KOH-alizarin red method for fetal bone. *Stain Technology*, v. 39, p. 61-63, 1964.

TAYLOR, P. *Practical Teratology*. Academic Press, New York, p. 77-100, 1986.

VINAGRE, A. S., RÖNNAU, Â. D. S. R. O., PEREIRA, S. F., SILVEIRA, L. U. D., WIILLAND, E. D. F., SUYENAGA, E. S. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 46, n. 2, p. 169-177, 2010.

WILSON, J. G. Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals. *Teratology: principles and techniques*, p. 262-277, 1965.

WISE, L. D., BECK, S. L., BELTRAME, D., BEYER, B. K., CHAHOUD, I., CLARK, R. L., HENWOOD, S. M. (1997). Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (version 1). *Teratology*, 55(4), 249-292.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos experimentais em animais, tradicionalmente, fornecem a base de triagem para a verificação do potencial teratogênico e genotóxico de um determinado agente e assim pode-se prever a segurança ou não do uso dos extratos.

Frente ao exposto, o presente estudo contribui de forma ampla para comprovar que o CCEx não tem efeitos toxicogênicos e, portanto, é seguro para uso. Além disso, o mesmo possui não ação quimiopreventiva e, assim, não é aconselhado para uso associado a quimioterápicos.

Concluímos também que o CCEx não causa toxicidade materna e não interfere nos parâmetros reprodutivos e do desenvolvimento embrionário, sugerindo assim um uso seguro inclusive no período gestacional.

7 ANEXOS

Anexo A: Certificado de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação dos efeitos tóxico-reprodutivos, teratogênicos e (anti)genotóxicos dos extratos etanólicos de plantas com possíveis efeitos medicinais em camundongos Swiss", registrada com o nº 965/2018, sob a responsabilidade de **Rodrigo Juliano Oliveira** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 6ª reunião ordinária do dia 07/08/2018.

FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	1º/10/2018 a 30/03/2020
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Mus musculus</i> / Swiss
Nº de animais	Machos 620 / Fêmeas 520 = 1.140
Peso/Idade	30g / 8 - 10 semanas
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério - UT/INBIO/UFMS

Joice Stein
Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 08 de agosto de 2018.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.propp@ufms.br
fone (67) 3345-7925

Anexo B: Resolução de aprovação do Projeto de Pesquisa vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste.



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



RESOLUÇÃO Nº 262, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2018.

A PRESIDENTE EM EXERCÍCIO DO COLEGIADO DE CURSO DOS CURSOS DE MESTRADO E DOUTORADO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE da Faculdade de Medicina da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no uso de suas atribuições legais, resolve, **ad referendum**:

1. Aprovar a **ALTERAÇÃO** do Projeto de Pesquisa, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, que passa a ser intitulado: **"AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICO-REPRODUTIVOS, TERATOGENICOS E (ANTI) GENOTÓXICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE CAMPOMANESIA XANTHOCARPA EM CAMUNDONGOS SWISS"** sob a responsabilidade da aluna de Mestrado **BRUNA BRANDÃO DE SOUZA**, RGA **201735486**, e orientação da Profª. **Andreia Conceicao Milan Brochado Antonioli da Silva**.

2. Toda pesquisa que envolva aspectos éticos deve ser submetida à apreciação de um **Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos** ou **Comissão de Ética no Uso de Animais** antes de iniciar a coleta de dados.

3. Após aprovação pelo Comitê/Comissão de Ética, uma cópia digital do Parecer deverá ser enviada à secretaria do Programa.

PRISCILA AIKO HIANE



Documento assinado eletronicamente por **Priscila Aiko Hiane, Coordenador(a) de Curso de Pós-graduação, Substituto(a)**, em 19/12/2018, às 09:49, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0949967** e o código CRC **BCFA39BF**.

COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.000046/2018-01

SEI nº 0949967



Anexo C: E-mail de comprovação da submissão do manuscrito à revista Journal of Ethnopharmacology.



Journal of Ethnopharmacology <Evisupport@elsevier.com>

para eu ▾

9 de set de 2019 15:27 (há 21 horas)



Dear Mrs Beal,

Submission no: JEP_2019_3404

Submission title: Ethanolic extract of fruits of Campomanesia pubescens do not change reproductive performance, embryofetal development and is not genotoxic

Corresponding author: Dr Rodrigo Juliano Oliveira

Listed co-author(s): Miss Yasmin Lany Ventura Said, Mrs Bruna Brandão Beal, Miss Silvia Cordeiro Das Neves, Miss Juliana Miron Vani, Dr Antônio Carlos Duenhas Monreal, Dr Cláudia Andréa Lima Cardoso, Professor Candida Kassuya, Dr Andréia Antonioli-Silva

Dr Oliveira has submitted a manuscript to Journal of Ethnopharmacology and listed you as a co-author. This email is to let you know we will be in contact with updates at each decision stage of the submission process.

The link below takes you to a webpage where you can sign in to our submission system using your existing Elsevier profile credentials or register to create a new profile. You will then have the opportunity to tailor these updates and view reviewer and editor comments once they become available.

http://www.evis.com/profile/api/navigate/JEP?resourceUrl=%2Fco-author%2F%3Fdgcid%3Dinvite_email_coauthoroutreach03788741%23%2FJEP%2Fsubmission%2FJEP_2019_3404&email=bruna.brandaosouza@gmail.com&firstName=Bruna+Brand%C3%A3o&surname=Beal&country=Brazil&institution=UFMS&title=Mrs

If you are not a co-author of this manuscript, please contact Researcher Support at: <https://service.elsevier.com>

Thank you very much for your submission and we will be in touch as soon as we have any news to share.

Journal of Ethnopharmacology

If you do not wish to receive further update emails on your co-authored submission, you can unsubscribe via this link:

http://www.evis.com/co-author/#/JEP/unsubscribe/bruna.brandaosouza@gmail.com/9UwZr_yujC8Ujclbkivd170WkiBhdhluNyPjz5ncpiJMAzrOibpVa5PvSTvawitJmYNAIPQBADdl-yxtvzp3Vg

Anexo D: Página inicial da submissão do manuscrito à revista Journal of Ethnopharmacology.

Manuscript Details

Manuscript number	JEP_2019_3424
Title	Absence of the toxic-reproductive, teratogenic and genotoxic effects of the ethanolic extract of <i>Campomanesia xanthocarpa</i> in mice
Article type	Research Paper

Abstract

Abstract Ethnopharmacological relevance: *Campomanesia xanthocarpa* Berg., Popularly known as guavirova or guabirobeira, is widely used in folk medicine and is used to regulate intestinal flow; for the treatment of cystitis, urethritis, dysenteries, gastric ulcers; It also has an anti-inflammatory effect. Several therapeutic possibilities have been scientifically tested and proven using the extract of this plant. Aim of the study: Faced with so many therapeutic possibilities, it has become necessary to evaluate the toxic-reproductive, teratogenic and genotoxic effects of the ethanolic extract of *Campomanesia xanthocarpa* (EECx) leaves, to ensure the safe use whatever the desired therapeutic purpose. Materials and Methods: Forty-five mice (*Mus musculus*) of the Swiss strain of both sexes (15 males; 30 females) of reproductive age were used. The pregnant females were distributed (n = 10) in the control group, animals treated with ultrapure water, and experimental groups that were treated with two doses of EECx (100 and 1000mg/kg). Results: No changes in biometric, reproductive, embryofetal and toxicogenetic parameters were observed at any of the doses tested. Conclusions: In view of this, it is suggested that EECx is safe to use, even during the gestational period, since it had no toxicogenetic effects, did not interfere in the reproductive parameters of female mice or the embryo-fetal development of their offspring.

Keywords	medicinal plant; Myrtaceae; leaves; guavirova; guabiroba
Taxonomy	Experimental Toxicology, Toxicology
Corresponding Author	Rodrigo Juliano Oliveira
Corresponding Author's Institution	Federal University of Mato Grosso do Sul
Order of Authors	Bruna Brandão Beal, Yasmin Lany Ventura Said, Sílvia Cordeiro das Neves, Juliana Miron Vani, Antonio Carlos Duenhas Monreal, Claudia Cardoso, Candida Kassuya, Rodrigo Juliano Oliveira, Andréia Antonioli-Silva

Submission Files Included in this PDF

File Name [File Type]

Bruna B Beal _ Cover Letter.docx [Cover Letter]
 Bruna B Beal _ Graphical abstract300.jpg [Graphical Abstract]
 Bruna B Beal _ JEP *Campomanesia xanthocarpa*.docx [Manuscript File]
 Bruna B Beal _ Co-authors.docx [Author Agreement]
 declaration-of-competing-interests.docx [Author Agreement]

To view all the submission files, including those not included in the PDF, click on the manuscript title on your EVISE Homepage, then click 'Download zip file'.

Research Data Related to this Submission

There are no linked research data sets for this submission. The following reason is given:
 Data will be made available on request