

VALIDAÇÃO DE TESTE TOXICOLÓGICO PRÉ-CLÍNICO PARA ESTUDO DE TOXICIDADE DE FORMULAÇÕES FITOTERÁPICAS EM BEZERROS RECÉM-DESMAMADOS

EMERSON LONGARETTI SOARES ^{1*}, VALFREDO SCHLEMPER ², DILENCAR BARRICHELLO ³, SUSANA REGINA DE MELLO SCHLEMPER ⁴

^{1,2} Acadêmicos de graduação curso de Medicina Veterinária *campus* Realeza-PR; ^{3,4} Docentes do curso de Medicina Veterinária *campus* Realeza-PR.

*Autor para correspondência: Emerson Longaretti Soares (ehhaiti@gmail.com)

Introdução

A *Marrubium vulgare* é uma planta medicinal utilizada na fitoterapia humana como na veterinária, principalmente por suas atividades anti-inflamatórias e analgésicas, seu uso na forma de chás é indicado principalmente para o tratamento de afecções do sistema respiratório e do trato gastrointestinal. Essa planta é conhecida popularmente como maromba ou marroio, comumente encontrada no Estado de Santa Catarina, e apesar de ser nativa do continente europeu, adaptou-se muito bem ao clima e solo da região Sul (SCHLEMPER et al., 1996). Estudos anteriores demonstraram atividades antiespasmódica, antinociceptiva, antiedematogênica, inibidora da migração celular, antidiabetogênica, antioxidante, entre outras. (SCHLEMPER et al., 1996). Grande parte de suas atividades biológicas é atribuída principalmente ao diterpeno marrubiina, presente em grande concentração na planta (SCHLEMPER et al., 1996).

Entretanto, os modelos experimentais até agora empregados nas pesquisas com a planta foram realizados em roedores, não havendo uma pesquisa aprofundada sobre a existência de possíveis efeitos tóxicos da planta ou de seus componentes fitoquímicos em grandes animais, nem existe em literatura científica descrição dos efeitos da *M. vulgare* em bovinos, o que é de fundamental importância, pois há relatos da utilização desta planta medicinal no meio rural para tratamento de enfermidades nesses animais, principalmente as de origem gastrointestinal. Assim, diante dessa carência de informações sobre a toxicologia da planta em mamíferos superiores, é necessário o desenvolvimento de um teste pré-clínico com a administração crônica de doses crescentes das partes aéreas da planta *in natura* pela via oral (STULZER et

al., 2006). O objetivo de nosso trabalho foi investigar evidências de toxicidade da planta *Marrubium vulgare* através da avaliação clínica e da utilização de testes hematológicos e bioquímicos em bezerros neonatos da raça Jersey.

Metodologia

Foram avaliados os parâmetros hematológicos como hematócrito, leucograma, proteínas totais circulantes, metabólitos e parâmetros enzimáticos, como dosagem das enzimas aspartato-aminotransferase (AST), Gama-Glutamiltransferase (GGT) por serem marcadoras de lesão hepática e renal.

Os bezerros machos neonatos da raça Jersey obtidos por meio de doação de produtores leiteiros do município de Realeza-PR mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pesando de 20 a 25 kg PV (peso vivo) em condições controladas receberam duas doses diárias crescentes da infusão em 500 ml de água das partes aéreas desidratadas da planta, juntamente com quatro litros de leite divididos igualmente em dois períodos, e o grupo controle recebeu igual quantidade de leite. A dose inicial de 1 g/kg PV b.i.d. (*bis in die* = duas vezes ao dia) permaneceu por 10 dias, após dobrou-se a dose pelos subsequentes 10 dias. A metodologia diacrônica de aumento de doses prosseguiu até 8 g/kg PV b.i.d. (1, 2, 4 e 8 g/kg PV b.i.d.) e foi autorizada pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA) sob o número 23205.004981/2013-40. Foram realizados exames clínicos sucessivos nos animais (temperatura, frequência cardíaca e respiratória e secreções) e a coleta de sangue a partir da punção venosa da jugular externa a cada 10 dias, para avaliação bioquímica e perfil hematimétrico no dia do início dos tratamentos e a cada dez dias concomitantemente aos dias de trocas das doses do infuso.

Resultados

As hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média nos animais testados apresentaram valores comparados ao grupo controle normais, e não deram indicativos de estados anêmicos, também não foi observada icterícia ou mesmo hemoglobinúria em qualquer período do experimento.

A administração crônica da infusão da *M. vulgare* não prejudicou os parâmetros clínicos, não sendo registradas no experimento diarreia, estados febris, inapetência ou anorexia. Digno de menção e factualmente não levantado de forma precisa em nossa pesquisa

observamos que os animais tratados cronicamente com o infuso da *M. vulgare* apresentaram sinais físicos externamente apreciáveis de uma acentuada higidez fisiológica, tal observação pode ser descrita por uma uniformidade, distribuição e brilho na pelagem dos animais tratados em uma comparação com animais de mesma faixa etária.

Foi detectada uma inibição significativa no número de neutrófilos circulantes ($P < 0.01$ e inibição máxima [IM] de $59.33 \pm 4.91\%$) e de monócitos ($P < 0.05$ e IM de $56.01 \pm 11.05\%$) a partir da dose de 4 g/kg b.i.d. Para proteínas totais e albumina, indicadores de função hepática, não houve significativas alterações, os testes enzimáticos aspartato-aminotransferase (AST) e gama-Glutamiltransferase (GGT) e os metabólitos ureia e creatinina não tiveram aumentos significantes no soro, o qual seria sugestivo de lesões hepáticas e renais.

Discussão

A frequência cardíaca e respiratória dos testados e grupo controle foram aferidas nos momentos dos incrementos de doses, a fim de complementar as informações referentes à sanidade dos grupos tratados, estados febris (TRALL, 2007). Os animais não apresentaram alterações nos parâmetros clínicos no período teste, demonstrando ausência de toxicidade das partes aéreas da *M. vulgare* como já era esperado.

A *M. vulgare* administrada por via oral cronicamente em doses crescentes não apresentou efeitos adversos na saúde de bezerros. Os indivíduos tratados apresentaram acentuada higidez fisiológica, sem demonstrar qualquer aversão ao consumo do infuso em qualquer dosagem administrada. Além disso, a infusão de planta inibiu de modo significativo o número de neutrófilos e monócitos totais circulantes, sugerindo um efeito imunomodulador, sem alterar negativamente os parâmetros enzimáticos de GGT e AST, os metabólitos ureia e creatinina não aumentaram seus valores séricos, de mesmo modo em que proteínas totais e albumina mantiveram-se dentro da normalidade, sugerindo ausência de comprometimento hepático e renal (TUROLLA, 2004).

A redução sérica de GGT reforça a atribuição de protetor hepático da planta, mas seus efeitos sobre essa enzima, assim como para macrófagos e neutrófilos carecem de aprofundamento.

Conclusão

A administração crônica da *M.vulgare* não provocou efeitos deletérios nos animais tratados, sem alterar parâmetros clínicos, hematológicos, enzimáticos e metabólitos comprovando a ausência de toxicidade e a possível aplicabilidade terapêutica em animais de fazenda.

Palavras-chaves: bovinos; marrubiína; toxicidade; planta medicinal.

Financiamentos: ¹*Bolsista no Edital: 294/ UFFS/ 2015 BOLSAS DE INICIAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E INOVAÇÃO 2015/2016 – PIBITI/CNPq e PRO-ICT/UFFS.

Referências

SCHLEMPER, V. et al. Antispasmodic effects of hidroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. **Phytomedicine**, v. 7. p. 103-107, 1996.

STULZER, H. K. et al. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 379–384, 2006.

THRALL, Mary Anne. **Hematologia e Bioquímica veterinária**. Cap 11,23,26. 1 ed. São Paulo: Roca. 582 p., 2007.

TUROLLA, Monica Silva dos Reis. **Avaliação dos aspectos toxicológicos dos fitoterápicos: um estudo comparativo**. 2004. 145 p. Dissertação para obtenção de Título de Mestre em ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo- Faculdade de ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2004.