

ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE O EPITÉLIO BRANQUIAL DO GUARU (*POECILIA VIVIPARA* BLOCH & SCHNEIDER, 1801)

RAFAEL ANTÔNIO MACHADO BALESTRA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) – Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN). Rua 229, Nº. 95, Setor Leste Universitário, CEP: 74.605-090, Goiânia (GO), Brasil; e-mail: rafaél.balestra@icmbio.gov.br

CÍNTIA MARIA SILVA COIMBRA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) – Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN). Rua 229, Nº. 95, Setor Leste Universitário, CEP: 74.605-090, Goiânia (GO), Brasil.

SIMONE MARIA TEIXEIRA DE SABÓIA-MORAIS

Universidade Federal de Goiás (UFG). Laboratório de Comportamento Celular (LCC/ICB IV).

RESUMO: O presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos citotóxicos dos extratos brutos das plantas *Eugenia uniflora*, (pitanga) *Solanum paniculatum* (jurubeba) e *Hyptidendron canun*, nas concentrações de 20, 60 e 100 µg/L sobre o epitélio branquial do guaru (*Poecilia vivipara*). Foram avaliados os dados de área e perímetro do filamento branquial, frequência, área e perímetro de células ricas em mitocôndrias para as regiões basal, intermediária e apical do epitélio de revestimento dos filamentos branquiais. A análise estatística destes dados indicou que os extratos brutos etanólicos de *S. paniculatum* e *H. canun* nas concentrações testadas, causam danos ao epitélio branquial e às células ricas em mitocôndrias do guaru. Por sua vez, o extrato bruto aquoso de *E. uniflora* demonstrou alta toxicidade para as células em geral, uma vez que 100% dos animais foram a óbito nas primeiras três horas de exposição.

PALAVRAS-CHAVE: Cerrado, brânquias, fitoquímica, métodos morfométricos.

ABSTRACT: The present work aimed to characterize the effects of the raw extracts of the plants *Eugenia uniflora* (Pitanga), *Solanum paniculatum* (Jurubeba) and *Hyptidendron canun*, in concentrations of 20, 60 and 100µg/L, in the branquial epithelium of guppy (*Poecilia vivipara*). The data on the area and perimeter of the branquial filament, frequency, area and perimeter of mitochondria-rich cells of the basal, intermediate and apexis regions of the covering epithelium of the branquial filaments were evaluated. The statistical analysis of these data indicated that the raw ethanolic extracts of *S. paniculatum* and *H. canun*, in the tested concentrations, cause damages to the branquial epithelium and to the guppy mitochondria-rich cells. In the other hand, the aqueous raw extract of *E.uniflora* demonstrated a high cytotoxicity for the guppy's cells, in general, considering that 100% of the specimens died in the first three hours of exposure.

KEY-WORDS: Cerrado, gills, morphometric methods, phytochemistry.

INTRODUÇÃO

O Cerrado abrange aproximadamente 25% do território brasileiro e é o segundo bioma em diversidade biológica deste país (Almeida *et al.*, 1998). Possui aproximadamente 250 espécies de plantas usadas na medicina popular (Eiten, 1994). No entanto, há pouca informação sobre seus constituintes

químicos e dos potenciais riscos à saúde (Pereira *et al.*, 2003).

As folhas de *Eugenia uniflora* L. são utilizadas na medicina popular com ações anti-diarréica, diurética, antirreumática, antitérmica e digestiva (Corrêa, 1984).

Estudos realizados por Ferro *et al.* (1988) indicam que o extrato de *E. Uniflora* é eficaz para controlar níveis de triglicérides, coleste-

rol VLDL e ácido úrico, assim como pressão sanguínea e peso corporal em macacos *Cebus apella* L.

A análise fitoquímica de folhas desta espécie detectou a presença de ácido gálico, sitosterol e triterpenos (Schikarski, 1976). As folhas são também ricas em óleos essenciais, contendo citronelol, geraniol, cineoli e sesquiterpenos (Henriques *et al.*, 1993). Flavonóides e taninos são amplamente distribuídos neste vegetal, destacando-se quatro variantes de taninos: galocatequina, oemoteína β , eugeniflorins D1 e D2 (Lee *et al.*, 2000).

As folhas e raízes de *H. Canun* são utilizadas em forma de chás, infusões e decocções com ações antimalarial, antiinflamatória, antihepatóxica e anticancerígena (Fernandes & Lee, 1998).

Nesta espécie foi detectada a presença de metabólitos secundários como alcalóides, flavonóides, terpenos, lignóides e lactonas (Stasi, 1996). Os óleos essenciais extraídos desta planta possuem composições complexas e diversificadas (Pereira *et al.*, 2003).

As folhas, os frutos verdes e as raízes de *S. paniculatum*, são utilizadas para o preparo de infusões e decocções para o tratamento de doenças hepáticas, icterícias, febres intermitente e como diurético (Corrêa, 1984). As folhas são utilizadas como cicatrizantes, enquanto o fruto é comestível, sendo popularmente considerado como um auxiliar no processo digestivo (Zurlo & Brandão, 1990).

Em *S. paniculatum* são encontrados alcalóides, gluco-alcalóides, ácido clorogênico, saponinas e resinas. Esses compostos têm efeitos tóxicos, de modo que não se recomenda a ingestão frequente de preparações com extratos desta planta (Zurlo & Brandão, 1990).

O guaru *Poecilia vivipara* Bloch & Schneider (1801) é reportado na literatura como um potencial modelo bioindicador (Bernet *et al.*, 1999).

Em experimentações com peixes, o epitélio branquial tem sido intensamente investigado (Bernet *et al.*, 1999). Esse tecido possui quatro tipos morfo-funcionais de células, cuja complexidade se reflete no epitélio de revestimento, que respondem diferentemente às mudanças do meio aquático, quais

sejam: células mucosas, pavimentosas, neuroepiteliais e ricas em mitocôndrias (Sabóia-Morais *et al.*, 1996).

As células ricas em mitocôndrias (CRM) destacam-se, pois são elas que mantêm o equilíbrio eletrolítico do animal, condição essencial para sobrevivência (Randall, 2000).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos citotóxicos dos extratos brutos das plantas *E. uniflora*, *S. paniculatum* e *H. canum* no epitélio branquial de *P. vivipara*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados cinquenta exemplares de *P. vivipara*, adultos, de ambos sexos. A manutenção e o experimento foram realizados de acordo com as normas de conduta ética em experimentação animal (Brasil, 1979).

O extrato bruto das folhas das espécies *E. uniflora*, *S. paniculatum* e *H. canum* foi obtido por meio da desidratação, trituração e submissão à percolação a frio em etanol 96%, ao abrigo da luz e sob agitação.

Os animais foram divididos em 10 grupos equitativos, tendo um grupo controle e nove grupos experimentais expostos às concentrações de 20, 60 e 100 $\mu\text{g/L}$ dos extratos.

Ao final da exposição, os animais foram mortos por decaptação, e os arcos branquiais incluídos em historresina (Leica, LKB 2218). Foram feitos cortes de 4 μm de espessura e corados com azul de toluidina a 1%.

Para a análise morfométrica, foram utilizadas duas lâminas por animal, contendo três cortes. Foi sorteado um corte por lâmina, neste foram sorteados três filamentos branquiais, os quais foram divididos em três regiões para estudo: basal, intermediária e apical (Sabóia-Morais *et al.*, 1996). Imagens dessas regiões foram digitalizadas através do software "Imagelab[®] Microsoft (versão 2.3)" para a medição da área e perímetro do epitélio branquial e, a quantificação e medição da área e perímetro das células ricas em mitocôndria (CRM). Foram analisadas 900 imagens.

Averiguou-se a ocorrência de alterações histológicas da brânquia submetendo-se

os índices obtidos ao protocolo de avaliação adaptado, proposto por Bernet *et al.* (1999). Cada variável foi enquadrada em um dos cinco padrões de reação descritos para a brânquia.

Neste estudo adaptou-se o referido protocolo para o cálculo do Índice da Brânquia, cuja determinação contempla o cálculo dos índices indicados a seguir:

$$Ib_{pr} = (a_{pr} \times w_{pr})$$

$$Ib = \sum \Sigma (a_{pr} \times w_{pr})$$

Nota: Ib = índice da brânquia; pr = padrão de reação; alt = alteração; a = valor score (nota); w = fator de importância.

As variáveis morfométricas: área, perímetro e número das CRM; área e perímetro do epitélio branquial, foram submetidos à ANOVA, comparando-se ao grupo controle. As médias obtidas foram separadas em grupos homogêneos independentes pelo teste de Scott & Knott (1974), através do NTSYSpc (2006) versão 2.0 para Windows.

As notas das alterações morfológicas observadas foram submetidas a uma análise de agrupamento com utilização do coeficiente de distância euclidiana (Valentin, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tem sido descrito na literatura que extratos obtidos das plantas do Cerrado são ricos em terpenos, flavonóides, taninos, saponinas, alcalóides, gluco-alcalóides, entre outros (Stasi, 1996).

Em experimentos *in vitro*, extratos brutos de *Eugenia dysenterica* DC, *Hyptis ovalifolia* Pohl. e *Annona crassiflora* Mart., apresentaram atividade antifúngica, atividades moluscicida e proliferativa em células do epitélio de revestimento branquial em peixes (*P. vivipara*) quando expostos aos extratos brutos e frações de *Caryocar brasiliense* Cambess e alguns extratos também apresentam atividades piscicidas, dentre estes, o *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e *Stryphnodendron polyphyllum* Mart (Motter *et al.*, 2004).

EUGENIA UNIFLORA L. (PITANGA)

As concentrações de 60 e 100 µg/L do extrato alcoólico de *E. uniflora*, promoveram nas regiões intermediária e basal, a redução no perímetro das lamelas branquiais com consequente redução da área respiratória, quando comparado ao grupo controle. Isto provavelmente ocorreu devido à proliferação celular e a vasodilatação ocorridas no epitélio exposto a estas concentrações (Figura 1 C, D, F).

Este resultado foi confirmado pelo estudo realizado por Adewunmi *et al.* (2001) ao avaliar o extrato aquoso de *E. uniflora*, em *Trypanosoma congolense* nas concentrações de 10, 20, 40 e 60 µg/L. Os resultados obtidos demonstraram uma alta atividade toxicológica sobre este protozoário.

O extrato etanólico da folha de *E. uniflora* causou óbito em 100% dos animais em todas as concentrações testadas, nas primeiras três horas de exposição. Foram também constatadas alterações morfofuncionais nas três regiões branquiais selecionadas para análise. Este resultado assemelha-se ao reportado por Pires (2002) que demonstrou que guarus expostos ao extrato de *Eugenia dysenterica* apresentaram 100% de mortalidade na concentração de 60 µg/L e 20% quando submetidos à concentração de 40 µg/L.

Constatou-se intensa vasodilatação no filamento branquial exposto às concentrações de 60 µg/L e 100 µg/L do extrato de *E. uniflora*, fato também observado por Silva *et al.* (2003) ao testar em guarus frações acetato de etila obtidas a partir da folha e casca do caule de *Caryocar brasiliense*. Em ratos, após perfusão com extrato bruto aquoso de *E. uniflora*, também foi aferido intensa vasodilatação (Consolini *et al.*, 1998).

Observou-se a vasodilatação promovida por extrato bruto de *E. uniflora*, num tratamento agudo (24 horas de exposição) em guarus, este fato pode ser atribuído como um efeito direto sobre o músculo liso dos vasos que irrigam as brânquias deste animal. De acordo com Karakj *et al.* (1997) tais efeitos promovem bloqueio dos canais de cálcio, ativação de canais de sódio e potássio, assim como o aumento da concentração de íons de K⁺ (redução do pH) e redução na demanda de

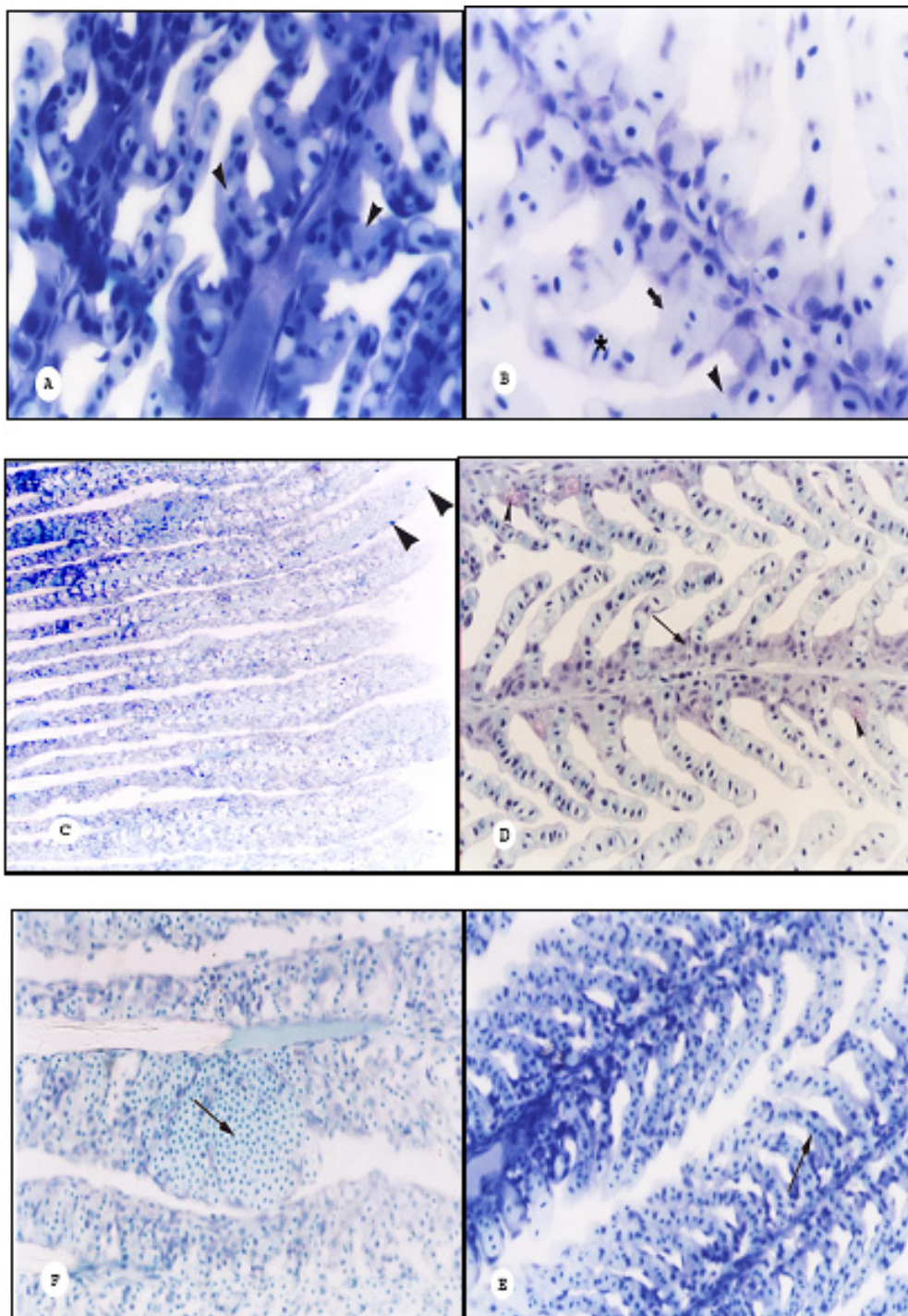


Figura 1 - Fotomicrografias dos filamentos evidenciando o epitélio branquial. **A.** região intermediária do grupo experimental (GE) 8 (*S. paniculatum* 60 µg/L) 475X. Observar células ricas em mitocôndrias (CRM) (cabeça das setas) invadindo o epitélio lamelar. **B.** Região intermediária do GE 5 (*H. canum* 60 µg/L) 475X. Observar célula rica em mitocôndria com hiperplasia (seta larga) e células ricas em mitocôndrias (cabeça de seta) invadindo o epitélio lamelar, notar também (asterísco) vasodilatação na região lamelar. **C.** região apical do GE 2 (*E. uniflora* 60 µg/L) 154X. Observar células mucosas (cabeça de seta) e danos ao epitélio de revestimento de uma forma geral. **D.** Filamento branquial do grupo controle 385X. Observar células ricas em mitocôndrias (seta) e células mucosas (cabeça de seta) no epitélio lamelar. **E.** Região intermediária do GE 6 (*H. Canum* 100 µg/L) 385X. Mostrando comportamento celular pouco alterado com intumescimento dos capilares lamelares (seta). **F.** Região intermediária do GE 3 (*E. uniflora* 100 µg/L). Observar edema nas lamelas branquiais com conseqüente fusão destas estruturas (seta). 385X. Técnica de coloração: azul de toluidina 1%.

oxigênio, fatores conhecidos como responsáveis por desencadear vasodilatação, como mecanismo que visa a manutenção da homeostasia. Observou-se ainda frente a este extrato, inúmeras células mucosas que liberaram seus conteúdos granulares formando uma cobertura sobre o epitélio branquial. A presença de muco faz parte do mecanismo de defesa dos peixes (Sabóia-Morais *et al.*, 1996).

A presença de hemácias intumescidas, a ocorrência de hipertrofia epitelial, hiperplasia celular, fusão lamelar por infiltrado de plasma sanguíneo e elevação epitelial que ocorreu nos guarus expostos a extratos de *E. uniflora* (Figura 1 C e F), se assemelham aos resultados obtidos por Cavichiolo (2000) em que alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram submetidos a diferentes níveis de vitamina C na ração para avaliar possíveis alterações histológicas em sua estrutura branquial.

Os animais submetidos aos extratos de *E. uniflora* apresentaram hiperplasia e alterações no posicionamento celular, uma vez que as lamelas branquiais se uniram modificando a morfologia do epitélio branquial (Figura 1 C e F), também semelhante às alterações descritas por Cavichiolo (2000) e Silva *et al.* (2003). As CRM se posicionaram, principalmente, nas regiões intermediária e apical do filamento, invadindo as lamelas, devido a sua hiperplasia. Tais alterações provavelmente ocorreram em função das modificações do meio, pois o espaço ocupado pelas células faria o epitélio lamelar se tornar mais espesso, o que conseqüentemente constituiria mais uma barreira para substâncias do meio externo não atingirem o leito capilar.

Sugere-se que as intensas vasodilatações encontradas no epitélio exposto ao extrato bruto de *E. uniflora* ocorreram na tentativa de manter a homeostasia branquial.

Foi evidenciado que os animais expostos ao extrato bruto da folha de pitanga, na concentração de 100 µg/L, apresentaram nas três regiões branquiais, maior densidade numérica de CRM quando comparado ao grupo controle.

As concentrações de 20 e 60 µg/L em *E. uniflora*, contudo, não demonstraram aumento da densidade numérica em relação ao grupo controle. Resultados semelhantes foram veri-

ficados por Silva *et al.* (2003), quando guarus foram expostos às frações da casca do caule de *C. brasiliense*. Entretanto, verificou-se que nestas concentrações houve aumento da área celular o que refletiu o intenso aumento observado na área destes epitélios.

Animais expostos ao extrato de *E. uniflora*, nas concentrações de 20 e 60 µg/L, apresentaram alterações na área e no perímetro das CRM (Figura 1 C e F). Isto pôde ser interpretado como uma forma de compensação, visto que este foi o extrato em que houve maior redução da densidade destas células nas concentrações estudadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva *et al.* (2003) testando a fração etérea da folha de *C. brasiliense* em brânquias de guarus.

O mesmo não se pôde constatar para todos os animais expostos à concentração de 100 µg/L, que sob a ação do extrato de *E. uniflora* evidenciou uma relativa redução na área e perímetro celular em todas as regiões estudadas. A intensa atividade citotóxica de *E. uniflora* observada provavelmente se deve a presença de taninos, que são substâncias tóxicas responsáveis por inúmeras atividades biológicas, como defesa das plantas contra o ataque de insetos e inibição do crescimento de micro-organismos. Análises dos constituintes químicos presentes em *E. uniflora* já demonstraram a presença de vários tipos de taninos (Lee *et al.*, 2000).

Constatou-se aumento do perímetro do epitélio branquial em todas as concentrações testadas nas três regiões branquiais amostradas.

O extrato de *E. uniflora* atingiu o maior índice de mudanças progressivas, o único a alterar o índice de reações inflamatórias e, o que causou maior valor no índice de reações tumorais (Tabela 1), promovendo assim o maior índice de alteração na brânquia, numa análise geral desse órgão (Figura 2).

HYPTIDENDRON CANUM (POHL EX BENTH.)

O epitélio de revestimento branquial exposto ao extrato da folha de *H. canum* apresentou redução significativa em sua área, nas três concentrações testadas (20, 60 e 100 µg/L), quando comparado ao grupo controle (Figura 1 B, D, E).

Tabela 1 - Índice de alterações da brânquia e índices dos padrões de reação do epitélio branquial de guarus (*Poecilia vivipara*) submetidos a três concentrações de *E.uniflora*, *H.canun* e *S. paniculatum*. Goiânia (GO).

Tratamentos	Índices de Padrões de Reações					Índice do Órgão
	Circula- tórias	Regres- sivas	Progres- sivas	Inflama- tórias	Tumorais	Brânquia
	IbC	IbR	IbP	IbI	IbT	IB
<i>E.uniflora</i> 20 µg/L	2	4	24	0	12	42
<i>E.uniflora</i> 60 µg/L	8	2	16	6	4	36
<i>E.uniflora</i> 100 µg/L	8	2	24	4	4	42
<i>H.canun</i> 20 µg/L	8	4	0	0	0	12
<i>H.canun</i> 60 µg/L	10	6	6	0	4	26
<i>H.canun</i> 100 µg/L	4	0	16	0	0	20
<i>S.paniculatum</i> 20 µg/L	6	6	4	0	0	16
<i>S.paniculatum</i> 60 µg/L	4	4	12	0	4	24
<i>S.paniculatum</i> 100 µg/L	2	0	4	0	0	6
Máximo possível	12	6	30	6	12	66

Nota - Avaliação adaptada do “Protocolo para avaliação de poluição aquática” proposto por Bernet *et al.* (1999).
 Legenda: Padrão de Reação 1 (PR1) – (distúrbios circulatórios): vasodilatação e fusão das lamelas; (PR2) – (mudanças regressivas): intumescimento de lamelas; (PR3)– (mudanças progressivas): hipertrofia epitelial, hiperplasia celular das CRM e frequência de células mucosas; (PR4)– (inflamação): presença de aglomerados de muco; e (PR5)– (neoplasias): divisão celular frequente (considerada benigna).

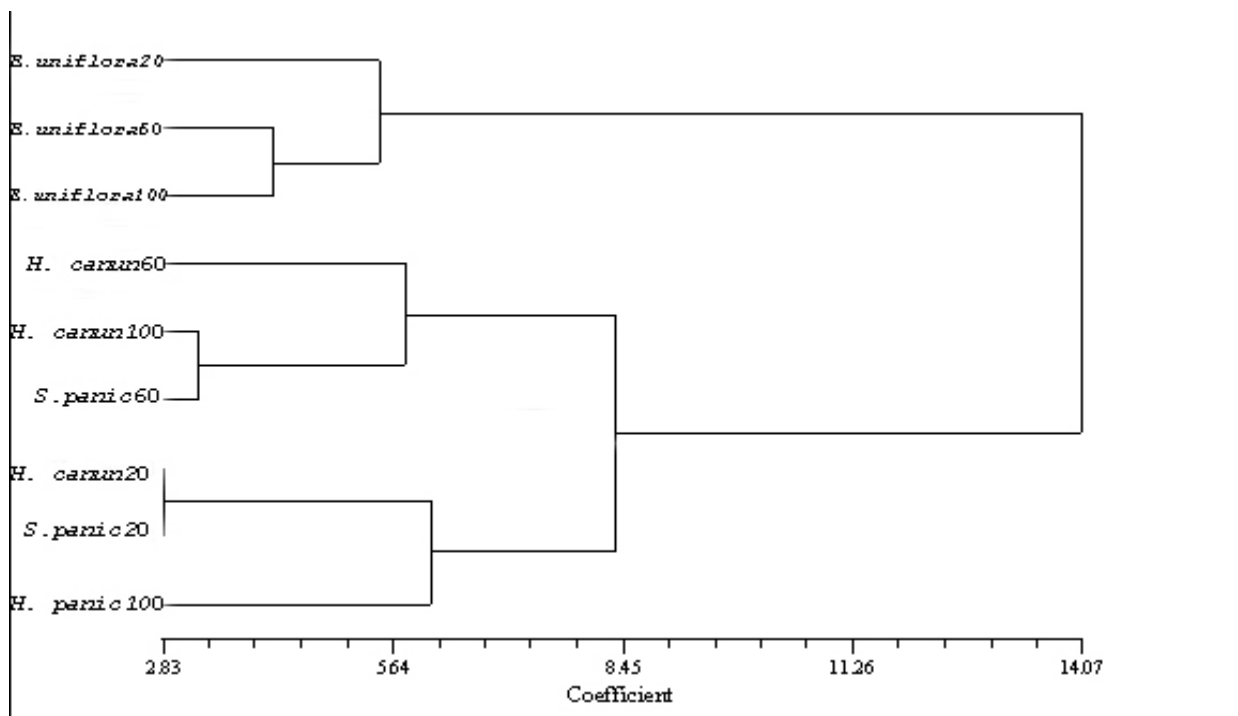


Figura 2 - Agrupamento de três extratos de plantas do cerrado em três concentrações conforme menor dissimilaridade entre índices de padrão de reação e índices de alteração da brânquia (coeficiente = distância euclidiana) (NTSYSpc, 2006).

Nota - Único dendrograma encontrado. Teste de Mantel com 5.000 randomizações: $t = 4,4239$. $p = 0,0004$. R cofenético = 0,723.

Esses resultados são concordantes aos apresentados por Campos *et al.* (1998), em que o extrato de *H. canun* apresentou potencial atividade inibidora de crescimento para o fungo leveduriforme *Paracoccidioides brasiliensis*. Estes autores sugeriram que terpenóides tetra ou pentacíclicos presentes no extrato de *H. canun* foram os responsáveis por tal efeito.

Na região basal, para a concentração de 60 µg/L, houve uma redução no perímetro do epitélio branquial.

Nos epitélios branquiais expostos aos extratos de *H. canun* as CRM sofreram hiperplasia, invadindo o epitélio lamelar. Estas células apresentaram-se volumosas, com núcleo único e com nucléolo evidente (Figura 1 B, D, E).

O extrato etanólico da folha de *H. canun* nas concentrações de 60 e 100 µg/L promoveu o aumento na densidade celular na região basal.

É oportuno ressaltar que não houve aumento na densidade celular para a concentração de 20 µg/L em todas as regiões consideradas e também, para as regiões intermediária e apical, nas concentrações de 60 e 100 µg/L. Manifestação semelhante foi demonstrada quando *H. canun* foi testado em *Escherichia coli* para avaliar sua atividade genotóxica e/ou potencial cancerígeno e, em *Salmonella typhimurium*, para avaliar sua atividade mutagênica (Mangueira & Lee, 1998), sendo que o extrato desta planta não apresentou nenhuma atividade sobre essas cepas bacterianas. Entretanto, este extrato, em todas as concentrações, interferiu na área das CRM do epitélio branquial do guaru.

Extratos brutos de *H. canun* promoveram aumento da área e do perímetro celular das CRM nas regiões analisadas, exceto na concentração de 60 µg/L, onde se observou redução na área e perímetro celular na região basal do filamento (Figura 1 B, D, E). O mesmo resultado foi observado quando se analisou o epitélio branquial, onde estão presentes estas células, em que houve redução apenas para a concentração de 100 µg/L na região basal.

Verificou-se um aumento significativo do perímetro do epitélio branquial em todas as concentrações testadas nas três regiões estudadas, provavelmente devido à diminuição da área, principalmente para a concentração

de 100 µg/L, em que o epitélio branquial evidenciou-se morfológicamente bem diferente ao do grupo controle, com aspecto mais alongado, porém com lamelas de contornos ainda bem definidos, resultando assim no aumento do perímetro.

SOLANUM PANICULATUM L. (JURUBEBA)

O epitélio branquial de revestimento do guaru exposto ao extrato etanólico de *S. paniculatum* na concentração de 20 µg/L evidenciou aumento significativo de área para as três regiões branquiais analisadas. Efeito semelhante foi observado para a concentração de 60 µg/L nas regiões apical e basal, e também na concentração de 100 µg/L para a região apical (Figura 1 A). Entretanto, para a concentração de 60 µg/L, evidenciou-se um decréscimo desse tecido mais acentuado na região intermediária do que a concentração de 100 µg/L para a mesma região, e significativamente inferior para a basal.

Barros (1967), em ensaios farmacológicos com gatos sem raça definida, demonstrou que o extrato etanólico de *S. paniculatum* causou depressão respiratória e diminuição da pressão arterial. Esses autores também verificaram efeitos tóxicos em camundongos pela injeção intraperitoneal e, ainda, atividade ictiotóxica.

Constatou-se a ocorrência de fusão lamelar no tecido dos animais expostos ao extrato de *S. paniculatum*, assim como a presença de dilatação de vasos sanguíneos, seguida de hemorragia (Figura 1 A).

Verificou-se que em todas as concentrações, nas três regiões estudadas, houve aumento do perímetro. O epitélio apresentou-se, morfológicamente, diferente do grupo controle, com aspecto mais alongado, porém com lamelas de contornos ainda bem definidos.

Observou-se a presença de CRM com formato globoso, com óstios evidentes e ocupando, principalmente, a região interlamelar do epitélio branquial. Segundo Leino & McCormick (1984), os óstios refletem o aumento do metabolismo dessas células. Observou-se ainda uma expressiva dilatação dos vasos sanguíneos, com conseqüente aumento de volume dos filamentos branquiais.

Para os animais expostos ao extrato etanólico da folha de jurubeba (*S. paniculatum*), não foram observados, nas três concentrações, aumento significativo de densidade numérica das CRM nas regiões apical e intermediária, quando comparamos com o grupo controle. Enquanto a região basal apresentou aumento na densidade numérica das CRM para a concentração de 20 µg/L (Figura 1 A).

O aumento da densidade numérica na região basal do filamento branquial pode indicar uma maior atividade metabólica para a mesma. Nestes epitélios, expostos ao extrato bruto de *S. paniculatum*, verificou-se um aumento na área total do epitélio, e ao mesmo tempo foi notado aumento no volume celular. Contudo, a diminuição na densidade numérica das CRM permite supor que a alteração do volume total do epitélio ocorreu devido à hiperplasia e hipertrofia, e não ao aumento de divisões celulares com consequente aumento no número de células (Figura 1 A).

Observou-se um decréscimo no número total de células, indicando a diminuição dos processos de proliferação celular. Supõe-se que isto se deva a ação das substâncias presentes na folha de *S. paniculatum*. Rodrigues *et al.* (1998), demonstraram que a fração alcalóidica de *S. lycocarpum* e *S. grandiflorum* inibem o crescimento de colônias de *P. brasiliensis*.

Extratos etanólicos de *S. paniculatum* demonstraram atividades indutoras de aumento na área e no perímetro das CRM para todas as concentrações e em todas as regiões analisadas (Figura 1 A). As atividades biológicas observadas nas brânquias do guaru possivelmente podem ser atribuídas pela ação dos princípios ativos como glico-alcalóides, ácido clorogênico, saponinas que estão presentes nessas plantas (Zurlo & Brandão, 1990).

CONCLUSÕES

Os extratos de *Eugenia uniflora*, *Hyptidendron canum* e *Solanum paniculatum*, provocaram ações biológicas na morfologia e citologia da brânquia do guaru.

H. canun apresentou o maior índice de distúrbios circulatórios e de mudanças regressivas.

O incremento na concentração dos extratos de *S. paniculatum* provocou diminuição do índice de alterações circulatórias (vasodilações e fusão das lamelas), da área do filamento branquial na região basal e aumento do perímetro das CRM da região basal do epitélio branquial.

A maior intensidade e velocidade nas alterações morfológicas das brânquias em resposta aos efeitos tóxicos avaliados foram observadas quando foram utilizados extratos de *E. uniflora*.

Os extratos de *S. paniculatum* e *H. canun* não foram letais para os peixes, porém houve redução na densidade das células ricas em mitocôndrias (CRM).

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de demanda social.

A CAPES, a FUNAPE, a FAPESP e a FINEP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adewumi, C.O.; Agbedahunsi, J.M.; Adebajo, A.C.; Aladesanmi, A.J.; Murphy, N.; Wando, J.** (2001). Ethno-veterinary medicine: screening of Nigerian medicinal plants for trypanocidal properties. *J. of Ethnopharmacology*, 77: 19-24.
- Almeida, S. P. A.; Proença, C. E. B.; Sano, S. M.; Ribeiro, J. F.** (1998). Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA/CPAC. 52p.
- Barros, G.S.G.** (1967). Pharmacological screening of some Brazilian northeastern plants. *Rev. Bras. Farm.* 48: 195.
- Bernet, D.; Schmidt, H.; Meier, W.; Burkhardt-Holm, P. & Wahli, T.** Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, v. 22, 25-34, 1999.
- Brasil.** (1979). Normas para a prática didática - científica da vivisseção de animais e determinação de outras providências. Lei nº 6.638, 8 de maio de 1979. *Lex. v.* 43, p. 416.

- Campos, F.C; Rodrigues, L.M; Ferri, P.H; Pereira, M; Ferreira, H.D.** (1998). Representantes da subtribo Hyptidinae como fonte de extratos ativos em *Paracoccidioides brasiliensis*. Resumo dos anais do VI Seminário de Iniciação Científica na UFG. p. 45-46.
- Consolini, A.E.; Baldini, O.A.N.; Amat, A.G.** (1998). Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *J. of Ethnopharmacology*, 66: 33-39.
- Corrêa, P.** (1984). Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, Imprensa acional. Ministério da Agricultura. Rio de Janeiro. vol. III, pp. 499-501.
- Cavichiolo, F.** (2000). Efeito da vitamina C (ácido ascórbico) na ocorrência de ectoparasitas e nas alterações histológicas em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Paraná.
- Eiten, G.** Vegetação. In: PINTO, M. N. Cerrado: caracterização, ocupação e perspectiva. 2ª ed. Brasília: Editora da Universidade de Brasília, 1994. p. 17-74.
- Fernandes, C.O.S.; Lee, C.C.** (1998). Detecção da atividade genotóxica (cromoteste e induteste) da planta medicinal do Cerrado: *Hyptidendron canum* em cepas bacterianas. Resumo dos anais do VI Seminário de Iniciação Científica na LTG. p. 57-58.
- Ferro, E.; Schinini, A.; Maldonado, M.; Rosner, J.; Schmeda-Hirschmann, G.** (1988). *Eugenia uniflora* leaf extract and lipid metabolism in *Cebus apella* monkeys. *Journal of Ethnopharmacology* 24 (2/3). 321-325.
- Henriques, A.T.; Sobral, M.E.; Cauduro, A.D.; Scahpoval, E.E.S.; Bassani, V.L.; Lamaty, G.; Menut, C.; Bessiere, M.** (1993). Aromatic plants from Brazil. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. *Journal of Essential Oil Research* 5:501-505.
- Karakj, H.; Ozaki, H.; Hori, M.** (1997). Calcium movements, distribution and functions in smooth muscle. *Pharmacological Reviews* 49:157-230.
- Leino, R.L. & McCormick, J.H.** (1984). Morphological and morphometrical changes in chloride cells of the gills of *Pimelodus promelas* after chronic exposure to acid water. *Cell Tissue Res.*, 236:121-128.
- Lee, M.H.; Chiou, J.F.; Yen, K.Y.; Yang, L.L.** (2000). EBV DNA polymerase inhibition of tanins from *Eugenia uniflora*. *Cancer Letter*, 151:131-136.
- Mangueira, P.A; Lee, C.C.** (1998). Detecção da atividade mutagênica (Teste de Ames) da planta medicinal do Cerrado *Hyptidendron canum* em cepas bacterianas. Resumo dos anais do VI Seminário de Iniciação Científica na UFG, p. 58-59.
- Motter, M.P.S; Silva, L.D; Santos, S.C; Sabóia-Morais, S.M.T.** (2004). Índice mitótico de células epiteliais das brânquias de guaru (*Poecilia vivipara*) tratadas por frações acetato de etila da folha e da casca do caule de pequi (*Caryocar brasiliense*). *Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41 (4): 221-227, 2004.
- NTSYSpc** (2006). Versão 2.02h, Windows, Applied Biostatistics Inc. SAHN - Sequential agglomerative hierarchical nested cluster analysis, UPGMA - Unweighted pair-group method, arithmetic average.
- Pereira, D.G.; Carvalho, S.; Fonseca, C.A.** Avaliação da genotoxicidade em planta do Cerrado - Verificação do potencial genotóxico de *Hyptidendron canum* em células germinativas de *D. Melanoaster*, através do teste Ring-x-loss. *Biologia Ciência e Desenvolvimento*, 2003.
- Pires, D.R.** (2002). Estudo citotóxico do fígado e do intestino do guaru (*Poecilia vivipara*) frente a extratos de plantas do Cerrado de Goiás. 2002. Monografia (Conclusão de curso - Biomedicina) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
- Randall, D.** (2000). Equilíbrio osmótico e iônico. *Fisiologia Animal - mecanismos e adaptações*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. P.569-571.
- Rodrigues, L.M.; Campos, F.C.; Ferreira, E.C.; Ferri, P.H.; Pereira, M.; Ferreira, H.D.** (1998). Influência do núcleo terpenoidal na bioatividade de esteróides e glicoalcalóides esteroidais de *Solanum lycocarpum* (Lobeira) frente a *Paracoccidioides brasili-*

liensis. Resumo dos anais do VI Seminário de Iniciação Científica na UFG, p. 46-47.

Sabóia-Morais, S.M.T.; Hernandez Blazquez, F. J., Mota, D. L.; Bittencourt, A. M. (1996). Mucous celi types in the branquial epithelium of the euryhaline fish *Poecilia vivipara*. J. Fish Biol.. 49: 545-548.

Schikarski, M. (1976). Ubre die Inhaltsstoffe von *Stenocalix micheili* (Lam.) Berg. (Myrtaceae) Münster. Universitat Münster, PILD. Thesis, pp. 148.

Scott, A.J. & Knott, M.A. (1974). A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. Biometrics 30, pp 507-512.

Silva, L.D; Nascimento, V; Santos, S.C; Morais, J.O.R; Sabóia-Morais, S.M.T. (2003). Análise morfométrica das células do cloro de *Poecilia vivipara* expostas a frações da folha e da casca do caule de *Caryocar brasiliense*. Acta Scientiarum, v. 25, (1): 195-201.

Silva, L.D; Rosa, E.V; Santos, S.C; Sabóia-Morais, S.M.T. (2003). Análise morfométrica do epitélio de revestimento do filamento branquial do guaru (*Poecilia vivipara*) exposto a fração do extrato da folha e casca do caule de pequi (*Caryocar brasiliense*). Arq. Ciênc. Saúde Unipar, 6(3):101-106.

Stasi, C. L. D. Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia para o estudo interdisciplinar. S.P.; P 109-126, 1996.

Valentin, J.L. (2000). Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos. Ed. Interciência. Rio de Janeiro.

Zurlo, C. & Brandão, M. (1990). As ervas comestíveis: descrição, ilustração e receitas. Editora Globo. São Paulo.

Recebido em 08/X/2009

Aceito em 07/X/2011