

## A TOXICIDADE DO *HYPERICUM PERFORATUM* ADMINISTRADO A RATAS PRENHES

LUCIANA VALENTE BORGES, JULIANA CORRÊIA DO CARMO, VERA MARIA PETERS, LUCIMAR LAS CASAS, MARTHA DE OLIVEIRA GUERRA\*

Trabalho realizado no Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora e na farmácia de manipulação Las Casas, Juiz de Fora, Minas Gerais, MG.

### RESUMO

**OBJETIVO.** No presente trabalho foi avaliada a toxicidade do *H. perforatum* administrado a ratas no período de organogênese (9<sup>o</sup> ao 15<sup>o</sup> dia de gestação).

**MÉTODOS.** Trinta ratas Wistar inseminadas foram distribuídas aleatoriamente nos grupos controle e tratado, que receberam, respectivamente, 0,5 mL de solução fisiológica e 36 mg/kg de extrato seco de Jarsin diluídos em 0,5 mL de solução fisiológica por gavagem. A toxicidade materna foi avaliada por: consumo de água e ração, peso corporal, piloereção, deambulação, diarreia e ocorrência de mortes. As ratas foram sacrificadas no 21<sup>o</sup> dia de gestação, quando foram removidos e pesados: rins, fígado e ovários. Foram calculados os índices de implantação e de reabsorção e foi verificado o número médio de fetos por rata.

**RESULTADOS.** Não foram observados sinais clínicos de toxicidade materna e nenhuma das variáveis analisadas apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais.

**CONCLUSÃO.** Na dose administrada e no modelo experimental utilizado, o *Hypericum perforatum* não apresenta manifestações tóxicas para ratas prenhas no período de organogênese.

UNITERMOS: *Hypericum perforatum*. Erva de São João. Organogênese. Toxicidade. Reprodução. Ratas.

### \*Correspondência:

R. São Mateus, 187, Apto. 801, Juiz de Fora, MG, Cep: 36025-001, Tel: (32) 3229-3251  
moguerra@cbr.ufjf.br

### INTRODUÇÃO

O *Hypericum perforatum* (erva de São João) é utilizado no tratamento da depressão leve a moderada e em outros distúrbios psiquiátricos, em humanos, como uma alternativa comprovadamente eficaz aos antidepressivos sintéticos, e também com excelente tolerabilidade<sup>1</sup>. A maioria dos fármacos usados no tratamento da depressão atravessam a placenta, são detectados no líquido amniótico e excretados pelo leite<sup>2,3,4</sup>, sendo seu uso desaconselhado para gestantes. Como a depressão em gestantes tem aumentado<sup>5</sup>, a busca de antidepressivos eficientes e seguros para o feto é uma necessidade real.

Sobre a toxicidade reprodutiva do *Hypericum perforatum* sabe-se que: afeta severamente a penetração do espermatozóide no ovócito de hamster; desnatura significativamente o DNA do espermatozóide e reduz sua viabilidade<sup>6</sup>; ativa o sistema enzimático citocromo P-450, o qual está envolvido com o metabolismo de muitos medicamentos, incluindo os contraceptivos de uso oral<sup>7,8</sup>. Administrado a ratas Wistar durante o período de pré-implantação, não altera o processo de segmentação do zigoto até blastocisto; não interfere no trânsito tubário nem na migração do blastocisto para o útero<sup>9</sup>. Embriões de ratos (com 9,5 a 11,5 dias) cultivados *in vitro* com hipericina apresentaram redução do número de somitos e do diâmetro do saco vitelino<sup>10</sup>.

O tratamento de ratos com dietas contendo concentrações variadas de *H. perforatum* (0, 180, 900, 1800, 4500 ppm), do início da gestação até o desmame, não alterou o ganho de peso materno nem a duração da gestação; não foram relatadas alterações comportamentais e o peso da ninhada foi similar até o 56<sup>o</sup> dia pós-natal; depois dessa idade, alguns animais do grupo tratado pesavam significativamente menos<sup>11</sup>.

Em camundongos, a exposição pré-natal a doses terapêuticas (180mg/Kg/dia) não teve impacto sobre a cognição de crias<sup>12</sup> e a administração antes e durante a gestação (180mg/Kg/dia) não afetou o desenvolvimento nem a maturação física da prole<sup>13</sup>.

Nota-se que os estudos relacionados à toxicologia do desenvolvimento concentram-se na fase pré-implantação<sup>9</sup>, no cultivo *in vitro* de embriões de ratos<sup>10</sup> e na maturação física e pós-natal de camundongos<sup>12</sup>. O cultivo *in vitro* de embriões elimina a possibilidade de modificação do princípio ativo durante o transporte através da placenta e pode mascarar um efeito tóxico que seria observável *in vivo*. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do *H. perforatum* administrado a ratas no período de organogênese.

### MÉTODOS

#### H. perforatum

O hipérico foi administrado sob a forma de extrato seco de Jarsin, contendo 0,4% de hipericina (Lote SJ001108 - Galena Química e Farmacêutica Ltda), gentilmente fornecido pela farmácia de manipulação Las Casas, Juiz de Fora, MG. A dose do hipérico foi calculada tendo como base a usada na terapêutica humana - 1800 mg/dia<sup>14</sup>.

#### Animais

Foram utilizadas 30 ratas Wistar, com quatro a cinco meses de idade, pesando em média 170 g, no primeiro dia após a inseminação, obtidas da colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução - UFJF. As condições do alojamento dos animais já foram descritas anteriormente<sup>15</sup>.

**Procedimento experimental**

As ratas foram distribuídas aleatoriamente nos grupos controle (n= 15) e tratado (n= 15). Os animais do grupo controle receberam 0,5 mL de solução fisiológica e os do grupo tratado, 36 mg/Kg de peso corporal (correspondente à dose terapêutica humana) de extrato seco de Jarsin, fracionado em duas doses de 18mg/Kg, diluídos em 0,5 mL de solução fisiológica. O tratamento foi realizado via intragástrica, duas vezes ao dia, do 9º ao 15º dia de gestação (período de organogênese na rata<sup>16</sup>).

Para a observação de efeitos tóxicos maternos utilizou-se o critério clínico descrito por Manson & Kang<sup>16</sup>. As ratas foram observadas visando a constatação de modificação da deambulação, piloereção, ocorrência de diarreia e de mortes. As fêmeas foram pesadas a cada três dias desde o 1º de prenhez, no dia do início do tratamento (9º dia) e no dia do sacrifício - 21º dia de gestação, quando o peso foi obtido antes e após a remoção do sistema reprodutor e seu conteúdo.

Durante todo o experimento, o consumo diário de ração foi estimado pela diferença de peso entre a ração colocada em um dia e a que sobrou no dia seguinte. Para estimar o consumo diário de água foram colocados 100 mL e no dia seguinte mediu-se a sobra de água.

O sacrifício foi realizado no 21º dia de gestação por excesso de inalação de éter. Foram dissecados e pesados fígado, rins e ovários maternos. Os índices de implantação (número de implantes/número de corpos lúteos x 100) e reabsorção (número de reabsorções/número de implantes x 100) foram calculados, assim como a média de fetos por rata foi verificada.

Este protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Juiz de Fora (Protocolo número 009 de 2002).

**Análise estatística**

A análise estatística foi feita pelo teste t de Student para amostras independentes. Nível de significância dos testes  $\alpha = 0,05$ .

**RESULTADOS**

Em nenhum dos grupos experimentais foram observadas modificações da deambulação, piloereção, diarreia e nem mortes. O consumo de ração e de água não mostrou diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Conforme se observa no Gráfico 1, o peso corporal materno não mostrou diferença significativa quando se comparam os dois grupos experimentais.

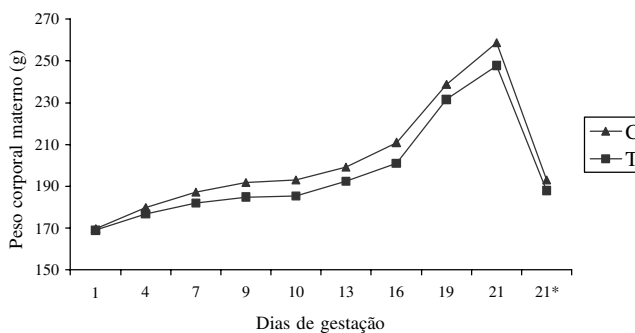
Na Tabela 1 são apresentados os pesos de órgãos maternos. Os resultados obtidos mostram que não houve diferenças estatisticamente significativas no peso de órgãos ao se compararem os grupos experimentais.

Os índices de implantação e reabsorção (Tabela 2) não diferiram entre os grupos, assim como a média de fetos por rata (C= 10,53±2,13 e T= 10,13±1,59) (p>0.05 para Qui-quadrado e teste de t de Student, respectivamente).

**DISCUSSÃO E CONCLUSÃO**

A avaliação de efeitos tóxicos de um fármaco inclui pesquisas para analisar sua toxicidade sobre o organismo materno, pois a

**Gráfico 1 - Peso corporal materno (g) durante a gestação nos grupos controle (C) e tratado (T)**



\*Peso após remoção do sistema reprodutor

**Tabela 1 - Peso corporal e dos órgãos maternos dos grupos controle e tratado**

Variáveis	Grupos	
	Controle (n = 15)	Tratado (n = 15)
PC1*(g)	169,7±4,1	168,9±3,6
PC21**(g)	192,9±18,9	187,9±10,9
Fígado (g)	11,4±0,9	10,6±1,0
Rim direito (mg)	651,4±54,0	668,6±38,4
Rim esquerdo (mg)	657,1±50,4	641,7±43,0
Ovário direito (mg)	34,0±5,9	37,9±1,1
Ovário esquerdo (mg)	35,2±8,6	32,9±8,6

Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão. \* Peso corporal materno no 1º dia de gestação. \*\* Peso corporal materno no 21º dia de gestação, após remoção do sistema reprodutor.

**Tabela 2 - Índices de implantação e de reabsorção dos grupos experimentais**

Grupos	Índices (%)	
	Implantação	Reabsorção
Controle (n = 15)	95,76 (158/165)	1,27 (2/158)
Tratado (n = 15)	95,45 (168/176)	1,19 (2/168)
P	0.829	0.659

toxicidade materna, definida como uma alteração transitória ou permanente na fisiologia materna com potencial para causar efeitos adversos nas crias durante o desenvolvimento embrionário ou pós-natal está intimamente associada com malformações características de cada espécie<sup>17</sup>. Neste sentido, foram utilizadas algumas abordagens visando detectar a toxicidade materna, entre elas, o controle do peso corporal, do consumo diário de ração e de água, modificações da deambulação, piloereção, ocorrência de diarreia e morte do animal, além do peso de fígado e rins<sup>16,18</sup>. Entre os animais controle e os tratados com o extrato de Jarsin, não foram encontradas quaisquer de tais alterações, indicando que o medicamento não parece ser tóxico para as mães, considerando-se os sinais clínicos observados.

O tamanho (ou peso) dos corpos lúteos correlaciona-se com a concentração de progesterona circulante<sup>19</sup>, que é o principal hormônio para manutenção da gestação<sup>20</sup>. Como o peso dos ovários não apresentou diferenças significativas entre os grupos experimentais, pode-se sugerir que não deva ter ocorrido alteração hormonal considerável em animais tratados com hipérico.

Sabe-se que o índice de implantação correlaciona-se com o número de corpos lúteos, e é um indicador do sucesso da implantação do blastocisto no endométrio<sup>21</sup>. Contrastando com o índice de implantação, a presença de reabsorções indica uma falha no desenvolvimento embrionário. Como os dois índices não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais, pode-se assumir que a capacidade reprodutiva materna foi semelhante.

Pode-se concluir, portanto, que na dose administrada e no modelo experimental utilizado o *Hypericum perforatum* não parece ter efeito tóxico sobre a rata prenha no período de organogênese.

#### AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi parcialmente financiada pela FAPEMIG (EDT 1879/02 – Rede Mineira de Ensaios Farmacológicos e Toxicológicos de Produtos Terapêuticos), FINEP (CT-Infra 1). As autoras agradecem aos técnicos Rosimar Rodrigues de Azevedo, Evelise Rocha de Almeida e Paulo Sérgio do Carmo, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Cássia da Silveira e Sá pela revisão do abstract e ao CNPq/PIBIC-UFJF pela bolsa concedida.

**Conflito de interesse:** não há.

#### SUMMARY

##### EVALUATION OF *HYPERICUM PERFORATUM* TOXICITY WHEN ADMINISTERED TO PREGNANT RATS

**BACKGROUND.** *Saint John's wort (Hypericum perforatum)* is a medicinal plant used in the treatment of depression and other psychiatric disorders.

**OBJECTIVE.** *In the present paper, the toxicity of H. perforatum administered to female rats during organogenesis (9<sup>th</sup> to 15<sup>th</sup> day of pregnancy) was evaluated.*

**METHODS.** *Thirty inseminated Wistar rats were randomly distributed into Control and Treated groups, which received by gavage, respectively, 0.5 ml of saline and 36 mg/Kg body weight of Jarsin dried extract diluted into 0.5 ml of saline. Maternal toxicity was evaluated by means of: water and food intake, body weight, piloerection, walking activity, diarrhea and death. Animals were killed on the 21<sup>st</sup> day of pregnancy, when kidneys, liver and ovaries were weighed. Implantation and reabsorption indices were calculated, as well as the average number of fetuses per mother.*

**RESULTS.** *Clinical signs of maternal toxicity were not observed and none of the variables analyzed showed statistically significant differences.*

**CONCLUSION.** *At the dose administered in the experimental model used, H. perforatum does not seem to be toxic to the mother.* [Rev Assoc Med Bras 2005; 51(4): 206-8]

**KEY WORDS:** *Hypericum perforatum*. St. John's wort. Organogenesis. Toxicity. Reproduction. Rat.

#### REFERÊNCIAS

- Harrer G, Schulz V. Clinical investigation of the antidepressant effectiveness of Hypericum. J Geriatr Psychiatry Neurol 1994;7(Suppl 1):S6-S8.
- Newport DJ, Molly MW, Stowe ZN. Antidepressants during pregnancy and lactation: defining exposure and treatment issues. Semin Perinatol 2001;25(3):177-90.
- Llewellyn A, Stowe ZN. Psychotropic Medications in Lactation. J Clin Psychiatry 1998;59(Suppl 2):41-52.
- Hostetter A, Ritchie JC, Stowe ZN. Amniotic fluid and umbilical cord blood concentrations of antidepressants in three women. Biol Psychiatry 2000;48:1032-4.
- Schmidt LA, Greenberg BD, Holzman GB, Schulkin J. Treatment of depression by obstetrician-gynecologists: a survey study. Obstet Gynecol 1997;90:296-300.
- Ondrizek RR, Chan PJ, Patton WC, King A. An alternative medicine study of herbal effects on the penetration of zona-free hamster oocytes and the integrity of sperm deoxyribonucleic acid. Fertil Steril 1999;71:517-22.
- Murphy PA. St. John's wort and oral contraceptives: reasons for concern? J Midwifery Womens Health 2002; 47:447-50.
- Shwarz UI, Büschel B, Kirch W. Unwanted pregnancy on self-medication with St. John's wort despite hormonal contraception. Br J Clin Pharmacol 2003;55:112-3.
- Borges NBES. Desenvolvimento embrionário no microambiente tubário de ratas (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) tratadas com *Hypericum perforatum* Linnaeus, 1753 [dissertação]. Juiz de Fora: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora; 2003.
- Chan LY, Chiu P, Lau T. A study of hypericin-induced teratogenicity during organogenesis using a whole rat embryo culture model. Fertil Steril 2001;76:1073-4.
- Cada AM, Hansen DK, La Borde JB, Ferguson SA. Minimal effects from developmental exposure to St. John's wort (*Hypericum perforatum*) in Sprague-Dawley rats. Nutr Neurosci 2001;4:135-41.
- Rayburn WF, Gonzalez CL, Christensen HD, Steward JD. Effect of prenatally administered hypericum (St. John's wort) on growth and physical maturation of mouse offspring. Am J Obstet Gynecol 2001;184:191-5.
- Rayburn WF, Gonzalez CL, Christensen HD, Harkins TL, Kupiec TC. Impact of hypericum (St.-John's-wort) given prenatally on cognition of mice offspring. Neurotoxicol Teratol 2001;23:629-37.
- Staffeldt B, Kerb R, Brockmoller J, Ploch M, Roots I. Pharmacokinetics of hypericin and pseudohypericin after oral intake of the *Hypericum perforatum* extract LI 160 in healthy volunteers. J Geriatr Psychiatry Neurol 1994;7(Suppl 1):S47-53.
- Peters VM, Guerra MO. Animais de experimentação – padrões biológicos – ratos: morfometria e dados sobre a reprodução de ratos Wistar do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução. Juiz de Fora, Universidade Federal de Juiz de Fora; 1996.
- Manson JM, Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: Hayes AW, editor. Principles and methods of toxicology. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Raven Press; 1994. p.989-1034.
- Khera KS. Maternal toxicity of drugs and metabolic disorders: a possible etiologic factor in the intrauterine death and congenital malformations: a critique on human data. Crit Rev Toxicol 1987;17:345-75.
- Khera KS. Maternal toxicity: a possible factor in fetal malformations in mice. Teratology 1984;29:411-6.
- Uchida K, Kadowari M, Nomura Y, Miyata K, Miyak T. Relationship between ovarian progesterin secretion and corpora lutea function in pregnant rat. Endocrinol Jpn 1970;17:499-507.
- Kato H, Morishige WK, Rotchild I. A quantitative relationship between the experimentally determined number of conceptuses and corpus luteum activity in pregnant rat. Endocrinology 1979;105:846-50.
- Ford WCL. The effect of deoxy-6-fluoroglucose on the fertility of male rats and mice. Contraception 1982;25:535-45.

Artigo recebido: 01/03/04

Aceito para publicação: 02/06/04