

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS MORFOLÓGICAS

**EFEITO DE *FOENICULUM VULGARE* MILL.
SOBRE A GESTAÇÃO, UTILIZANDO
CAMUNDONGO COMO MODELO EXPERIMENTAL**

**Sofia Louise Santin Barilli, Méry Stéfani Leivas Pereira,
Priscila Tonial Foscarini, Flávia Corvello da Silva, Tatiana Montanari**

2011

INTRODUÇÃO

Foeniculum vulgare Mill. (funcho) é comumente usada para fins medicinais e culinários.

É utilizada ainda para promover a menstruação e aliviar os sintomas do climatério, possivelmente por conter substâncias estrogênicas^{1,2} e antiespasmódicas³.

O suco das folhas frescas é tomado para o controle da fertilidade na Etiópia⁴.

¹ Albert-Puleo M. Fennel and anise as estrogenic agents. **J Ethnopharmacol** 1980;2:337-44.

² Annusuya, S, Vanithakumari G, Megala N, Devi K, Malini T, Elango V. Effect of *Foeniculum vulgare* seed extracts on cervix and vagina of ovariectomised rats. **Indian J Med Res** 1988;87:364-7.

³ Forster HB, Niklas H, Lutz S. Antispasmodic effects of some medicinal plants. **Planta Med** 1980;40:309-19.

⁴ Desta B. Ethiopian traditional herbal drugs. Part III: Anti-fertility activity of 70 medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 1994;44:199-209.

OBJETIVOS

- Avaliar o potencial abortivo de *Foeniculum vulgare* Mill. na gestação de camundongo como modelo experimental;
- Avaliar o potencial teratogênico pela análise macroscópica dos fetos, caso a gestação não seja interrompida.

MATERIAL E MÉTODOS

- Estudo do efeito abortivo

Infusão das sementes
(4mL/kg/dia)



Extrato hidroalcoólico das
folhas (1000mg/kg/dia)



Extrato hidroalcoólico das
inflorescências (1000mg/kg/dia)



Grupo controle
4mL/kg/dia água destilada



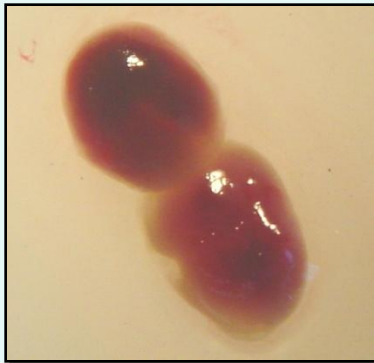
Períodos de administração:

- 1º ao 3º dia de gestação (dg) ➡ transporte dos embriões pela tuba uterina
- 4º ao 6º dg ➡ implantação
- 7º ao 9º dg ➡ início da placentação e da organogênese

n = 20

Avaliação dos parâmetros reprodutivos:

No 18º dg, os ovários e o útero foram retirados, e foram contados corpos lúteos, sítios de implantação, reabsorções embrionárias, embriões degenerados, fetos vivos e fetos mortos para calcular os índices reprodutivos.



- Avaliação da teratogenicidade:

Os fetos foram fixados em líquido de Bouin para análise de malformações externas e internas ou em álcool 95%, diafanizados em KOH 1% e corados com alizarina vermelha para análise do estágio de desenvolvimento e de anomalias esqueléticas.



Cortes de feto fixado em líquido de Bouin




Feto corado com alizarina vermelha

- Análise estatística


Dados paramétricos

- peso das fêmeas
- peso dos ovários
- peso das placentas
- peso dos fetos
- nº de corpos lúteos
- nº de sítios de implantação
- nº de fetos vivos

 ANOVA, post-hoc teste de Dunnett

Dados não paramétricos

- nº de embriões degenerados
- nº de fetos mortos
- nº de reabsorções embrionárias
- índices reprodutivos
- dados de teratogenicidade

 Kruskal-Wallis entre os grupos

Mann-Whitney entre grupo tratado e controle

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Estudo do efeito abortivo

Os parâmetros reprodutivos não foram afetados significativamente pela infusão ou pelos extratos nos diferentes períodos de administração.

Efeito de *F. vulgare* sobre os parâmetros reprodutivos.

Grupo	Corpos lúteos	Sítios de implantação	Reabsorções embrionárias	Embriões degenerados e fetos mortos	Fetos vivos
1º ao 3º dg					
Controle	15.05 ± 1.23	12.85 ± 3.75	1 [0-2]	0 [0-0]	11.10 ± 3.89
Infusão das sementes	15.25 ± 1.74	13.40 ± 4.10	1 [1-2.5]	0 [0-0.5]	11.05 ± 3.80
Extrato das folhas	15.75 ± 1.71	11.35 ± 6.18	1.5 [0-4]	0 [0-0]	8.75 ± 5.20
Extrato das inflorescências	15.85 ± 1.79	11.05 ± 5.17	1 [0-2]	0 [0-0]	9.85 ± 4.89
4º ao 6º dg					
Controle	15.25 ± 2.05	12.50 ± 4.63	2 [0-2.5]	0 [0-0]	10.50 ± 4.27
Infusão das sementes	16.30 ± 1.84	12.40 ± 5.74	1.5 [0-2.5]	0 [0-0]	10.80 ± 5.21
Extrato das folhas	16.75 ± 2.12	10.60 ± 6.39	1.5 [0-4]	0 [0-0]	7.95 ± 5.16
Extrato das inflorescências	16.95 ± 1.91	11.90 ± 5.19	0 [1-2]	0 [0-0]	9.95 ± 5.36
7º ao 9º dg					
Controle	17.15 ± 1.57	13.25 ± 5.29	1.5 [1-2.5]	0 [0-0]	11.10 ± 4.69
Infusão das sementes	16.80 ± 3.56	13.35 ± 6.22	1 [0-2]	0 [0-0.5]	11.40 ± 5.52
Extrato das folhas	16.35 ± 2.06	11.85 ± 6.23	1 [0-2]	0 [0-0]	8.80 ± 6.05
Extrato das inflorescências	17.65 ± 3.48	14.80 ± 5.38	1 [0.5-3]	0 [0-1]	12.50 ± 4.6

Dados de embriofetividade apresentados como mediana e quartis e os demais como média ± desvio padrão.

Contudo, quando administrados do 4^o ao 6^o dg, os extratos das folhas e das inflorescências reduziram a implantação dos embriões e, conseqüentemente, o índice de natalidade.

Efeito de *F. vulgare* sobre os índices reprodutivos (%).

Grupo	Índice de implantação ^a	Índice de reabsorção ^b	Índice de mortalidade ^c	Índice de natalidade ^d
1º ao 3º dg				
Controle	93.73 [86.19-100]	6.91 [0-20.84]	0 [0-0]	83.34 [61.25-92.86]
Infusão das sementes	94.10 [89.95-100]	7.14 [6.46-18.34]	0 [0-3.13]	80.63 [66.76-89.59]
Extrato das folhas	93.33 [58.42-100]	10.72 [0-28.72]	0 [0-0]	61.77 [41.76-82.14]
Extrato das inflorescências	84.38 [45.75-100]	6.67 [0-15.97]	0 [0-0]	73.34 [39.52-90.18]
4º ao 6º dg				
Controle	93.75 [80.56-100]	12.92 [0-18.41]	0 [0-0]	79.91 [62.36-86.19]
Infusão das sementes	91.40 [73.34-100]	10.42 [0-16.67]	0 [0-0]	73.33 [48.34-89.49]
Extrato das folhas	78.36 [24.3-94.12]	12.71 [0-26.67]	0 [0-0]	50 [22.03-70]**
Extrato das inflorescências	83.77 [58.83-91.61]*	8.12 [0-15.38]	0 [0-3.13]	67.65 [29.55-84.51]
7º ao 9º dg				
Controle	88.86 [68.25-100]	11.21 [6.12-19.94]	0 [0-2.78]	75.74 [55.26-80]
Infusão das sementes	93.54 [84.61-100]	6.07 [0-14.36]	0 [0-5.41]	73.68 [54.86-90.42]
Extrato das folhas	88.24 [54.03-100]	6.28 [0-14.36]	0 [0-0]	70.59 [31.42-83.73]
Extrato das inflorescências	89.47 [75.6-97.5]	7.42 [1.94-17.65]	0 [0-5.76]	72.56 [64.08-82.84]

^a Índice de implantação = (nº de sítios de implantação/nº de corpos lúteos) x 100;

^b Índice de reabsorção = (nº de reabsorções/nº de sítios de implantação) x 100;

^c Índice de mortalidade = (nº de embriões degenerados e fetos mortos/nº de sítios de implantação) x 100;

^d Índice de natalidade = (nº de fetos vivos/nº de corpos lúteos) x 100.

Diferença em relação ao grupo controle: ***p = 0.016**, ****p = 0.051**, teste **U de Mann-Whitney**.

O efeito adverso na implantação dos embriões pode ser causado por:

- **desequilíbrio hormonal:** estrógenos de plantas inibem o pico de estrógeno necessário para a implantação¹ e afetam a receptividade uterina ao embrião²;
- **ação sobre a motilidade uterina:** o extrato etanólico das folhas demonstrou atividade uterotônica, enquanto o extrato aquoso não teve efeito³; o óleo essencial reduziu as contrações induzidas por ocitocina e prostaglandina E2 no útero isolado de rato⁴;
- **embriotoxicidade:** *F. vulgare* contém substâncias citotóxicas⁵.

¹ Ements CW. Antifertility agents. **Ann Rev Pharmacol** 1970;10:237-54.

² Denker H-W. Cell biology of endometrial receptivity and of trophoblast-endometrial interactions. In: Glasser SP, Mulholland J, Psychoyos A, editors. **Endocrinology of embryo-endometrium interactions**. New York: Plenum Press, 1994. p. 17-32.

³ Desta B. Ethiopian traditional herbal drugs. Part III: Anti-fertility activity of 70 medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 1994;44:199-209.

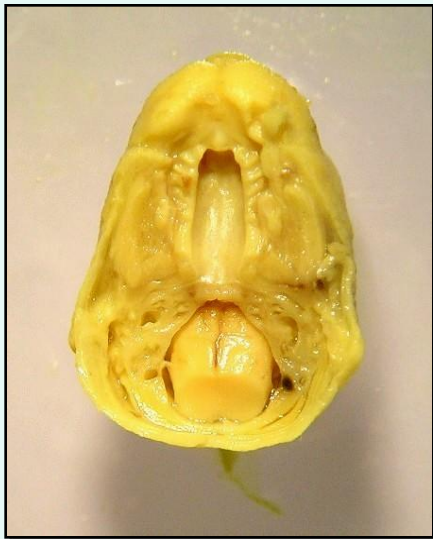
⁴ Ostad SN, Soodi M, Shariffzadeh M, Korshidi N, Marzban H. The effect of fennel essential oil on uterine contraction as a model for dysmenorrhea, pharmacology and toxicology study. **J Ethnopharmacol** 2001;76:299-304.

⁵ Kaileh M, Berghe W V, Boone E, Essawi T, Haegeman G. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. **J Ethnopharmacol** 2007;113:510–6.

- Avaliação da teratogenicidade:

Observou-se uma incidência significativa de malformações, particularmente fenda palatina e hipoplasia renal, no grupo tratado com o extrato das inflorescências no 4^o ao 6^o dg.

Esternóbrios desalinhados foram frequentes nos grupos tratados com infusão de sementes.



Fenda palatina



Exencefalia



Micrognatia

Distribuição de malformações e anomalias esqueléticas.

Grupo	Anomalias esqueléticas ^a	Malformações externas e viscerais ^a
1º ao 3º dg		
Controle	52.63% (18/105)	10% (3/119)
Infusão das sementes	89.5% (34/106) ^b	31.6% (8/115)
Extrato das folhas	60% (19/74)	37.5% (8/92)
Extrato das inflorescências	61.1% (17/95)	21% (4/102)
4º ao 6º dg		
Controle	66.7% (19/100)	0% (0/112)
Infusão das sementes	87.5% (27/97)	5.9% (1/112)
Extrato das folhas	61.5% (10/64)	23.5% (4/84) ^d
Extrato das inflorescências	58.8% (22/95)	52.6% (16/112) ^{e, f}
7º ao 9º dg		
Controle	72.2% (21/106)	16.7% (4/116)
Infusão das sementes	82.4% (27/107)	5.9% (1/111)
Extrato das folhas	66.7% (20/84)	25% (5/96)
Extrato das inflorescências	68.8% (22/107)	33.3% (8/129)

^a % crias com fetos anormais (nº de fetos anormais/nº de fetos analisados);

Diferença significativa em relação ao controle: ^b $p = 0.012$; ^d $p = 0.032$; ^e $p = 0.000$; teste U de Mann-Whitney.

Diferença significativa entre os grupos: ^f $p = 0.000$; teste de Kruskal-Wallis.

Aumento significativo de esternóbrios desalinados foi observado com outras plantas (*Pfaffia glomerata*¹ e *Morinda citrifolia*²) e substâncias químicas (ácido valproico² e agentes antineoplásicos³).

A relevância de variações esqueléticas para avaliar o risco de uma droga é controversa, já que são mudanças anatômicas transitórias que não afetam a sobrevivência. Contudo, Chaoud & Paumgarten³ identificaram que a sua incidência aumentou de modo dose-dependente e em doses menores do que aquelas que elevaram a ocorrência de malformações.

Na cultura de brotos de membros de rato, o óleo essencial diminuiu o índice de viabilidade celular e a produção de BMP-4 pelos condroblastos e condrócitos, afetando a condrogênese.⁴

Um potencial teratogênico por *F. vulgare* deve ser considerado.

¹ Barilli SLS, Montanari T. An experimental investigation on effect of the medicinal plant *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen on gestation. **Reprod Climat** 2008;23:72-6.

² Marques, NFQ.; Marques, APBM.; Iwano, AL.; Golin, M.; De-Carvalho, RR.; Paumgarten, FJR.; Dalsenter, PR. Delayed ossification in Wistar rats induced by *Morinda citrifolia* L. exposure during pregnancy. **J.Ethnopharmacol** 2010;128:85-91.

³ Chaoud, I.; Paumgarten, FJR. Dose-response relationships of rat fetal skeleton variations: relevance for risk assessment. **Environmental Research** 2009;109:922-9.

⁴ Ostad SN, Khakinegad B, Sabzevari O. Evaluation of the teratogenicity of fennel essential oil on the rat embryo limb buds culture. **Toxicol Vitro** 2004;18:623-7.

CONCLUSÃO

A infusão das sementes não causou perda de embriões antes da implantação, nem morte embrionária ou fetal. Contudo, os extratos das folhas e das inflorescências tiveram um efeito adverso sobre a implantação, reduzindo a taxa de natalidade.

A infusão das sementes tomada popularmente pode não afetar a gestação, mas o funcho tem um potencial anti-implantação, e a concentração ou isolamento das substâncias ativas é necessário para esse resultado.

Teratogenicidade não deve ser descartada.

RESUMO

Foeniculum vulgare Mill. (funcho) é comumente usada para fins medicinais e culinários. É utilizada ainda para promover a menstruação e aliviar os sintomas do climatério, possivelmente por conter substâncias estrogênicas e antiespasmódicas.

Para avaliar seu potencial abortivo e teratogênico, infusão das sementes, extrato hidroalcoólico liofilizado das folhas ou das inflorescências de funcho (ou água destilada) foi administrado, por via oral, a camundongas CF1 no 1º ao 3º dia de gestação (dg) (período pré-implantação), no 4º ao 6º dg (implantação) ou no 7º ao 9º dg (início da organogênese) (n=20). No 18º gd, as fêmeas foram laparotomizadas, e foram contados corpos lúteos, sítios de implantação, reabsorções embrionárias, embriões degenerados e fetos vivos e mortos para calcular os índices reprodutivos. Os fetos foram analisados para malformações externas e internas e anomalias esqueléticas. Dados paramétricos foram analisados por ANOVA, post-hoc teste de Dunnett, e dados não paramétricos, por Kruskal-Wallis ou Mann-Whitney. Foi considerado significativo $p < 0,05$.

A infusão das sementes não causou perda de embriões antes da implantação, nem morte embrionária ou fetal, mas esternóbrios desalinhados foram frequentes. Quando administrados no 4º ao 6º dg, os extratos das folhas e das inflorescências reduziram a implantação e, conseqüentemente, a taxa de natalidade. Observou-se uma incidência significativa de malformações, particularmente fenda palatina e hipoplasia renal, no grupo tratado com o extrato das inflorescências no 4º ao 6º dg.

Conclusões: A infusão das sementes não afetou os parâmetros reprodutivos, mas os extratos das folhas e das inflorescências tiveram um efeito adverso sobre a implantação, reduzindo a taxa de natalidade. Teratogenicidade não deve ser descartada.