

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DO SUL DE MINAS**

**BIOMEDICINA**

**ALINE NOGUEIRA OLIVÉ**

**MAYRA FRANCISCA BRUZIGUES LOPES**

**INFLUÊNCIA DA INFUSÃO DE *Eclipta prostrata* NO TECIDO HEPÁTICO.**

**Varginha  
2011**

**BIOMEDICINA**  
**ALINE NOGUEIRA OLIVÉ**  
**MAYRA FRANCISCA BRUZIGUES LOPES**

**INFLUÊNCIA DA INFUSÃO DE *Eclipta prostrata* NO TECIDO HEPÁTICO.**

Monografia apresentada ao curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sul de Minas-UNIS/MG como pré-requisito para obtenção do grau de bacharel, sob a orientação do Professor Mestre Amilton Marques.

**Varginha**  
**2011**

**ALINE NOGUEIRA OLIVÉ  
MAYRA FRANCISCA BRUZIGUES LOPES**

**INFLUÊNCIA DA INFUSÃO DE *Eclipta prostrata* NO TECIDO HEPÁTICO.**

Monografia apresentada ao curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sul de Minas-UNIS/MG como pré-requisito para obtenção do grau de bacharel, pela Banca Examinadora composta pelos membros: Amilton Marques, Maria Celma P. Prado Furlanetto e Thiago Nasser.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---

Professor Ms. Amilton Marques

---

Professora Esp. Maria Celma P. Prado Furlanetto

---

Professor Ms. Thiago Nasser

OBS.:

**Dedicamos esse trabalho á nossos pais e  
nossos irmãos, que sempre estiveram conosco  
nos momentos em que surgiram os obstáculos  
e quando esses foram superados. Sem a  
presença constante de vocês conosco a  
conclusão desse projeto seria mais árdua.**

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos nosso professor Amilton Marques, por confiar na nossa capacidade, pelas sábias palavras compartilhadas e pelo incentivo durante o desenvolvimento do trabalho; nossos pais e familiares, por estarem conosco durante todo o crescimento acadêmico; os laboratórios Hemocele Laboratório de Análises Clínica e ao laboratório de patologia IMED, pela atenção no decorrer dos experimentos. Agradecemos também o Dr. Janini e a Dra. Renata, por colaborar na identificação dos achados histológicos; os nossos mestres presentes na banca, por disponibilizarem alguns minutos de seu tempo para contribuir com o nosso crescimento profissional e agradecemos a Deus, por nos conduzir nessa caminhada e apresentar pessoas cruciais para a conclusão dessa etapa.

**“Eu gosto de catar o mínimo e o escondido.  
Onde ninguém mete o nariz, aí entra o meu,  
com a curiosidade estreita e aguda que  
descobre o encoberto”.**

**(Machado de Assis)**

## RESUMO

A *Eclipta prostrata* é utilizada popularmente no tratamento de doenças hepáticas, contudo o real mecanismos da planta sobre o perfil hepático é pouco conhecida. O presente estudo teve como objetivo avaliar, a influência da infusão de *E. prostrata* no tecido hepático e no perfil bioquímico. Para isso, foram utilizados ratos Wistar machos os quais foram divididos em quatro grupos, com seis ratos em cada grupo: placebo, controle negativo, controle positivo e teste. Os resultados histológicos e enzimáticos obtidos nesse modelo revelaram a presença de uma disfunção hepática, no grupo controle negativo e um bloqueio do processo do grupo teste. Com esses dados sugere-se que a planta possui duas funções, de hepatoproteção e hepatotoxicidade, dependendo do estímulo hepático exercido. A fim de definir quais são as substâncias responsáveis por essas respostas oposta, novos estudos são necessários para avaliar as substâncias atuantes no perfil hepático. Os resultados obtidos somados a estudos complementares poderão contribuir para a fabricação de um novo fitoterápico e dessa forma auxiliar no tratamento e prevenção de patologias hepáticas.

**Palavras-chave:** *Eclipta prostrata*, influência hepática, fitoterapia.

## ABSTRACT

*The Eclipta prostrata is popularly used in the treatment hepatic diseases, yet the influences mechanisms on the liver are poorly understood. The object this study, was evaluate biochemical processes and liver tissue on the effect of infusion. We used Wistar males rat divided in four group: placebo, negative control, positive control and test. The results histologic and enzymatic of this model, showed hepatic dysfunction in the negative control group and inhibited this processes of the tests group. With this data it is suggested that the Eclipta prostrata has two hepatic role, protective or intoxication, depending of the stimulated on the liver. For known what are the responsible chemical composts for this answer different, we suggest a study new to evaluate the specific chemical composts influential in the hepatic answer. The results and complementary study can contribute for creation of a new medicament and in the treatment and prevention of the liver disease.*

**Keywords:** *Eclipta prostrata*, influence liver, phytotherapy

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Estrutura química básica dos flavonóides.....	14
Figura 02 - Desenho esquemático da segmentação hepática.....	17
Figura 03 - Aspecto tridimensional do fígado normal.....	21
Figura 04 - Aspecto macroscópico.....	30
Figura 05 - Clivagem hepática.....	31
Figura 06 - Tecido hepático normal.....	31
Figura 07 - Colestase.....	32
Figura 08 - Tumefação.....	32
Figura 09 - Esteatose microgoticular peri-portal.....	33
Figura 10 - Necrose.....	33
Figura 11 - Cirrose.....	34
Figura 12 - Gráfico 1.....	36
Figura 13 - Gráfico 2.....	36
Figura 14 - Gráfico 3.....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Enzimas modificadas em problemas hepáticos.....	27
Tabela 02 - Proteínas e ácidos modificados em patologias hepáticas.....	27
Tabela 03 - Resumo dos achados histológicos.....	35

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 FITOTERÁPICOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3 <i>ECLIPTA PROSTRATA</i>.....</b>	<b>13</b>
<b>4 FLAVANÓIDES.....</b>	<b>14</b>
<b>5 FÍGADO.....</b>	<b>16</b>
5.1 Anatomia.....	16
5.2 Fisiologia.....	18
5.3 Lóbulo Hepático.....	20
5.4 Hepatócito.....	21
5.5 Padrões da lesão hepática.....	22
<b>6 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA.....</b>	<b>26</b>
<b>7 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
7.1 Experimental.....	28
7.2 Amostragem.....	29
<b>8 RESULTADO.....</b>	<b>30</b>
8.1 Análises histológicas.....	30
8.2 Dosagens enzimáticas.....	36
<b>9 DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>10 CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Parte significativa dos medicamentos existentes possui como matéria - prima plantas, microrganismos e animais, principalmente quando a patologia trata-se de infecção bacteriana e tumores (malignos e/ou benignos). Dentre essas maneiras de se obter um medicamento as plantas ganham destaque, uma vez que o mercado fitoterápico está em ascensão.

A utilização de plantas no tratamento de doenças em todo o mundo é uma cultura milenar, conhecimentos que foram transmitidos por gerações entre as famílias. Contudo, junto com essa cultura popular, observou-se que algumas plantas utilizadas apresentavam efeitos tóxicos ao organismo e outras manifestavam de maneira diferente entre os indivíduos. Buscando explicações científicas, o estudo da ação biológica das plantas *in vivo* tem-se tornado mais frequente, pois é de interesse médico e social descobrir um meio economicamente viável e ao mesmo tempo seguro para tratar doenças. Partindo desse princípio, a possibilidade de utilizar medicamentos fitoterápicos vem ganhando destaque por todas as áreas da saúde.

Dentre a infinidade de plantas presentes na flora nacional e nativa de países tropicais e subtropicais, a *Eclipta prostrata* L., antes denominada de *Eclipta alba* L. Hassk, popularmente conhecida como agrião do brejo, erva lanceta, erva botão e erva cidreira dependendo da região, é o objeto de nosso estudo. É utilizada em tratamentos de hepatomegalia, esplenomegalia e edema (SOUZA, 2006 apud NADARNI, 1954) e em alguns países e regiões do Brasil em processos de cicatrização animal.

Vários estudos científicos comprovam a influência desse extrato no perfil hepático e nos processos de cicatrização, contudo pouco se sabe das características histológicas e bioquímicas *in vivo* sobre a ação da planta no fígado.

Visando melhorar o entendimento e a correlação bioquímica com as alterações histológicas, o objetivo desse estudo foi avaliar em Ratos Wistar a capacidade de ação do extrato da planta em ratos saudáveis e com lesão induzidas pela injeção de tetracloreto. Os resultados encontrados sugerem estudos farmacológicos que propiciem a fabricação de um medicamento fitoterápico.

## 2 FITOTERÁPICOS

A medicina alternativa vem ganhando destaque na área acadêmica, social e na saúde. Em pesquisa realizada, estima-se que aproximadamente 40% dos medicamentos disponíveis no mercado tem seu desenvolvimento partindo de fontes naturais e a porcentagem eleva-se para 70% quando os medicamentos estão relacionados com oncologia e infecção bacteriana (CALIXTO 2001, apud SOUZA, 2006).

As plantas ganham destaque em relação aos outros tipos de matéria-prima principalmente no Brasil e nos demais países com clima tropical e subtropical. Uma vez que, o posicionamento geográfico favorece o crescimento de diversas espécies de plantas.

Os primeiros estudos com plantas ocorreram juntamente com a criação da química orgânica moderna, no ano de 1800, em que os experimentos eram baseados no conhecimento popular, principalmente dos orientais. Com a evolução científica alguns conceitos foram modificados e a medicina oriental passou a ser mais compreendida e estudada. (YUNES; CECHINEL FILHO, 2001 apud SOUZA, 2006).

A partir de então, iniciou a produção e comercialização de alguns desses medicamentos fitoterápicos. Atualmente pesquisadores e administradores visam aumentar a produção dos mesmos, por ser de baixo custo e assim grande parte da população terá acesso e a comercialização no mercado internacional poderá auxiliar nesse crescimento. Yunes et. al, comprovam essa ascensão econômica afirmando que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares.

Contudo, um dos maiores problemas encontrados, é a garantia de qualidade desses produtos e conseqüentemente a proteção da sociedade. De acordo com dados fornecidos pela Organização Mundial de Saúde, cerca de 65 a 80% da população mundial, que vive em países com processo de desenvolvimento dependem essencialmente de plantas para os cuidados iniciais de saúde. (ARANTES et. al, 2005).

Neste país, a utilização de plantas medicinais e seus derivados são controlados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), a qual tem como principal objetivo promover e proteger a saúde da sociedade por meio da garantia sanitária de produtos e serviços, contribuindo para maior acessibilidade. (BRASIL, 1999 apud CARVALHO et. al, 2008.)

Esse órgão público exige a comprovação científica da planta, considerando efeitos farmacológicos e toxicológicos, para que posteriormente adicione-a como uma planta medicinal devidamente registrada. Em consulta feita nos dados da ANVISA não foram encontrados nenhum registro atualizado da *E. prostrata*.

### **3 ECLIPTA PROSTRATA**

A *Eclipta prostrata* L., antes denominada de *Eclipta alba* L. Hassk, é popularmente conhecida como agrião do brejo, erva lanceta, erva botão. Nativa dos países de clima tropical e subtropical tem seu crescimento anual, espontâneo nos ambientes úmidos, podendo atingir cerca de 60 cm de altura por 60cm de largura (CHOPRA et. al, 1956; MEHRA; HANDA, 1968 apud SOUZA, 2006).

Pesquisas relacionando sua utilização na cultura popular constataram que, é unânime utilizar o extrato da planta no tratamento de hepatomegalia, esplenomegalia, edema e em processo de cicatrização em animais de grande porte (NADARNI, 1954; CHOPRA et al, 1956; BOWN, 1995; CHEVALLIER, 1996 apud SOUZA, 2006).

Além das utilizações citada a cima, Dae-ik Kim et al, 2008 intrigados com o a utilização tradicional da planta na prevenção do tratamento de arteriosclerose e dislipidemia na Ásia, realizaram ensaios *in vivo* que confirmaram o efeito antioxidante, inibidor do acúmulo de LDL e aumento do HDL, propiciando um melhor prognostico no tratamento de arteriosclerose e justificando sua ação sobre as dislipidemias. No mesmo trabalho, destacou que a maneira de se prepara o extrato pode influenciar no efeito dos componentes da planta.

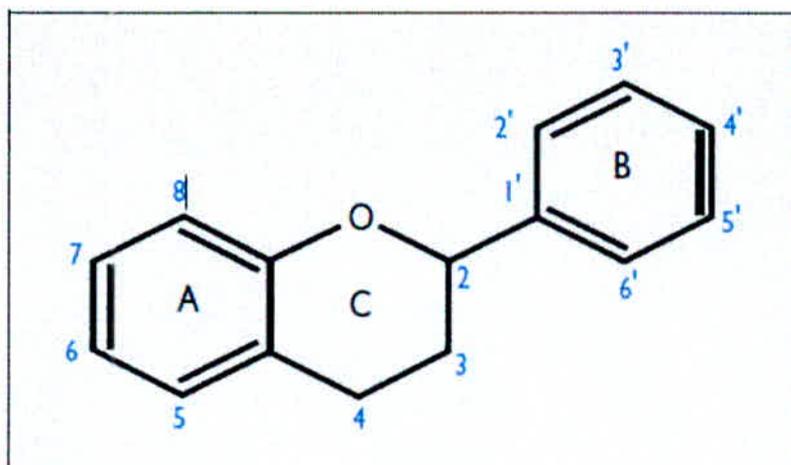
A extração das substâncias presentes na planta foi efetuada por meio de diversas técnicas a fim de se obter o extrato bruto da *Eclipta prostrata*. Independente dos métodos utilizados para extração foi detectado comumente encontrado os seguintes constituintes químicos: flavonóides: wedelolactona e dimetilwedelolactona; os esteróides: sisterol e estigmasterol e os terpenóides. Sendo os flavonoídes, de maior porcentagem quando comparado com os demais compostos (MATOS, 1994).

## 4 FLAVONOIDES

Descoberto em 1930, os flavonóides foram extraídos pela primeira vez da laranja. Por acreditarem que se tratava de uma vitamina, foi denominado inicialmente como vitamina P (de permeabilidade) e anos mais tarde descobriram que na realidade era um flavonóide (SIMÕES et. al, 2000, apud MACHADO et. al, 2008).

Os flavonóides são pigmentos naturais presentes em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e seus derivados. Desempenham um papel de defesa dos mesmos frente a ataques de insetos, vírus, bactérias e fungos, deficiência de nutrientes, umidade, radiação solar, poluição atmosférica e decomposição de sementes. (SOUZA, 2006) e de acordo com a intensidade de exposição a esses fatores, sua concentração pode ser modificada (SIMÕES et. al, 2000, apud MACHADO et. al, 2008).

Os flavonóides são compostos de baixo peso molecular e apresentam como estrutura básica C6-C3-C6 (Figura 1). É a estrutura química que irá definir a atividade bioquímica e seus metabólitos, uma vez que essa sofre modificação nos radicais, principalmente no carbono 3 da cadeia C, dando origem as classes diferenciadas de flavonóides (SILVA, 2008).



**Figura 1:** Estrutura química básica dos flavonóides. A e B anéis fenil ligados através de C anel pirano.  
**Fonte:** SILVA, 2008.

Flavonóides e isoflavonóides compreendem uma classe de fitoquímicos e como tal não podem ser sintetizados por humanos. Dessa forma, esse composto é obtido através da ingestão dietética (PETERSON; DWYER, 1998; BIRT; HENDRICH; WANG, 2001 apud OLIVEIRA, 2010).

No organismo humano, os flavonóides apresentam propriedades terapêuticas diversificadas na prevenção de patologias. Seu mecanismo antioxidante, por exemplo, faz

com que a carcinogénese, mutagénese e doenças cardiovasculares sejam inibidas, por meio da ativação de um sistema enzimático.

Alguns estudos desenvolvidos mostram que, os flavonóides podem ainda auxiliar no tratamento de doenças neurodegenerativas como, o Alzheimer e doença de Parkinson e auxilia na prevenção da arteriosclerose (SILVA, 2008), também pela sua ação antioxidante, que dificulta a formação de radicais livres nas artérias e diminui a concentração de colesterol LDL e aumenta HDL. (KIM, 2008; OLIVEIRA, 2010).

## 5 FÍGADO

### 5.1 Anatomia

De maneira geral o fígado é um órgão situado no quadrante superior direito do abdômen e encontra-se dividido em dois lóbulos maiores, esquerdo e direito, pelo ligamento falciforme e dois lobos menores, caudado e quadrado. É um órgão que apresenta ampla multiplicidade quanto à distribuição das estruturas vasculares sanguíneas e biliares no interior do seu parênquima.

O fígado é o segundo maior órgão do corpo e a maior glândula, pesando de 1.400 a 1.600g, representando 2,5% do peso anatômico e é o mais complexo órgão, apresenta superfície lisa e recoberta por cápsula própria, está situado na cavidade abdominal, abaixo do diafragma, no quadrante superior direito, protegido pelas costelas, apresenta forma piramidal, com seu ápice atingindo o apêndice xifóide. (SHERLOCK 1985; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; JAMES, 2005).

A anatomia do fígado apresenta características distintas quanto os aspectos morfológicos e funcionais. A anatomia morfológica do fígado divide o órgão em lobos, delimitados por sulcos, elementos facilmente visualizados na superfície da víscera.

Morfologicamente o fígado apresenta quatro lobos, sendo dois maiores e dois menores. Os dois lóbulos maiores, esquerdo e direito, encontram-se separados na face ântero-superior, por uma dobra de peritônio, denominada de ligamento falciforme e na face inferior, pela fissura umbilical. (SCHINONI, 2006).

Existe uma diferença de volumes entre os lóbulos direito e esquerdo, sendo que o direito possui aproximadamente seis vezes o tamanho do esquerdo. (SHERLOCK 1985).

Na face do lobo direito, a fissura transversa ou hilar, região onde entram no parênquima hepático os ramos da veia porta, da artéria hepática e os ductos biliares, demarca dois pequenos lobos, um anterior, lobo quadrado e outro posterior, lobo caudado ou de Spiegel. (SCHINONI, 2006).

Está revestido por uma cápsula delgada de tecido conjuntivo, cápsula de Glisson, que torna mais espessa no hilo hepático, por onde a veia porta e a artéria hepática penetram no fígado e por onde saem os ductos hepáticos direito e esquerdo e os linfáticos. Estes vasos e ductos estão circundados por tecido conjuntivo ao longo de toda sua extensão, até o termino ou origem nos espaços porta entre os lóbulos hepáticos. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O fígado é recoberto por peritônio, exceto em três locais, ele entra em contato direto com o diafragma e as outras áreas sem cobertura peritoneal são os sulcos da veia cava inferior e da vesícula. (SHERLOCK, 1985).

Funcionalmente, o fígado é dividido em dois hemi-fígados, conhecidos como fígado direito e esquerdo, os quais são divididos em setores e segmentos, tendo como elementos de definição os pedículos portais e as veias hepáticas. O lobo direito possui um setor anterior e outro posterior e o lobo esquerdo um setor medial e lateral, esses setores possuem vascularização arterial e portal e drenagem biliar próprias. Cada um desses setores são divididos em dois outros, sendo no total oito segmentos hepático. (MACHADO, 2003; TRIVIÑO, ABIB, 2003).

Os fígados direito e esquerdo são separados pela cisura portal principal, também conhecida como linha de Cantlie, que corresponde como linha que, originando-se no ponto médio do leito vesicular, anteriormente, dirige-se posteriormente, ao longo da face ântero-superior do fígado, à face lateral esquerda da veia cava na sua porção supra-hepática. (TRIVIÑO, ABIB, 2003, p.409)

Com as divisões observadas no fígado os oitos segmentos são numerados com algarismos romanos, de I a VIII, sendo que cada segmento hepático constitui uma unidade funcional do fígado, com uma triade portal própria e sendo drenado por um ramo de uma das veias hepáticas. O fígado esquerdo possui quatro segmentos, I a IV, sendo nutrido pela artéria esquerda e ramo esquerdo da veia porta e o fígado direito é constituído pelos outros quatro segmentos, V a VIII sendo nutrido pela artéria hepática direita e pelo ramo direito da veia porta. (MACHADO, 2003; TRIVIÑO; ABIB, 2003).

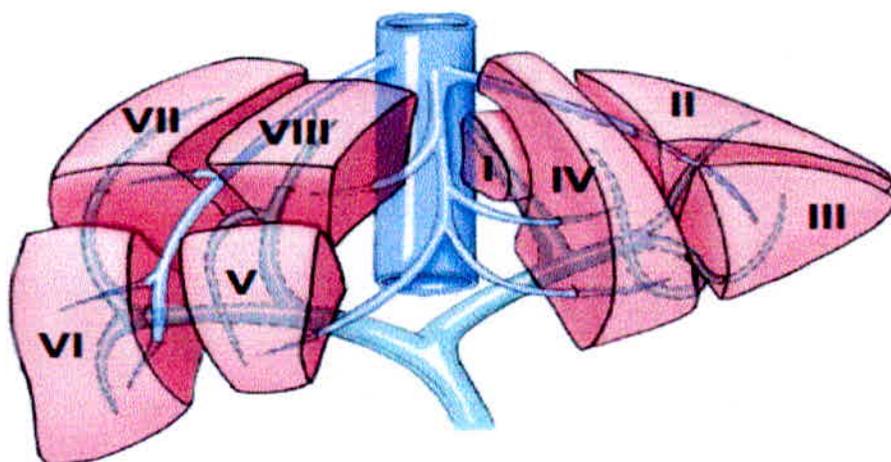


Figura 2: Desenho esquemático da segmentação hepática. Os segmentos são numerados de I a VII.  
Fonte: MACHADO (2003).

O fígado é uma glândula anexa ao tubo digestivo, é o órgão mais volumoso do organismo, sua vascularização tem características próprias, onde o sangue chega por duas vias, pela artéria hepática e pela veia porta e sai pelas veias hepáticas. Pelos processos realizados com o sangue, o fígado é também considerado como uma glândula endócrina, exercendo múltiplas funções.

## 5.2 Fisiologia

A compreensão sobre a fisiologia hepática permite a identificação de processos patológicos que possa atingir esse órgão. A secreção de bile é a sua principal função digestiva sendo essencial na regulação do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios, no armazenamento de substâncias e na degradação e excreção de hormônios, sendo responsável pela transformação e excreção de drogas, a hemostasia e o auxílio à resposta imune.

O fígado é um órgão incomum, pois possui duplo suprimento sanguíneo, a veia porta recebe sangue venoso dos intestinos e do baço e a artéria hepática, originária do tronco celíaco, fornece sangue arterial ao fígado através de uma fissura, o hilo hepático, que situa bem posteriormente na superfície inferior do lobo direito. No hilo, a veia porta e a artéria hepática dividem-se em ramos para os lobos esquerdo e direito e os ductos biliares hepáticos direito e esquerdo juntam-se para formar o ducto hepático comum. (SHERLOCK, 1985; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A drenagem venosa do fígado ocorre para dentro das veias hepáticas direita e esquerda, que emergem da região posterior do fígado e penetram simultaneamente na veia cava inferior, muito próximo ao seu ponto de entrada na aurícula direita. (SHERLOCK, 1985).

Os vasos linfáticos terminam em pequenos grupos de linfonodos ao redor do hilo hepático. Os vasos eferentes drenam para linfonodos ao redor do tronco celíaco. Alguns linfáticos hepáticos superficiais atravessam o diafragma no ligamento falciforme e alcançam os linfonodos mediastínicos. O grupo acompanha a veia cava inferior para dentro do tórax, drenando para pequenos linfonodos ao redor da porção intratorácica da veia cava inferior. (SHERLOCK, 1985, p. 2).

O plexo nervoso hepático contém fibras provenientes tanto dos gânglios simpáticos de T7 a T10, que fazem sinapse no plexo celíaco, quanto dos vagos direito e esquerdo e do nervo frênico direito. (SHERLOCK, 1985)

O fígado é o órgão na qual os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para utilização por outros órgãos, sendo uma interface entre o sistema

digestivo e o sangue. Grande parte do sangue que vai para o fígado chega pela veia porta e uma menor porcentagem é suprida pela artéria hepática. Todos os nutrientes absorvidos pelo intestino chegam ao fígado pela veia porta, exceto os lipídios complexos, quilimícrons, que chegam ao fígado pela artéria hepática. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Sua posição no sistema circulatório faz com que seja capaz de captar, transformar e acumular metabólitos e para a neutralização e eliminação de substâncias tóxicas, que ocorre na bile, caracterizando uma secreção exócrina do fígado, importante para a digestão de lipídios. Está relacionada com a produção de proteínas plasmáticas, como a albumina e outras proteínas carreadoras. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; SCHINONI, 2006).

O fígado é responsável pelo metabolismo dos carboidratos, garantindo a manutenção da glicemia, esse processo envolve dois mecanismos a glicogenólise e a gliconeogênese. Quando a glicemia está elevada, sintetiza o glicogênio. Quando a glicemia cai, o fígado utiliza o glicogênio armazenado para sintetizar glicose, mantendo assim os níveis glicêmicos relativamente constantes. É responsável por produzir glicose através da conversão de aminoácidos, lipídios ou carboidratos simples. Esses processos são regulados por diversos hormônios. (SCHINONI, 2006). O fígado exerce papel central no metabolismo dos ácidos graxos e outros lipídeos e lipoproteínas.

Este órgão também está envolvido no metabolismo dos aminoácidos e proteínas, o fígado sintetiza a maioria das proteínas plasmáticas, albumina, fatores de coagulação, transferrina, alfa 1-anti-tripsina e lipoproteínas não alimentares. A síntese e secreção de cada uma depende da integridade de muitos aspectos da função celular.

O metabolismo das bilirrubinas é uma função hepática de grande importância. O pigmento resultante do catabolismo da hemoglobina após a destruição das hemácias pelo sistema retículo endotelial é chamado de bilirrubina, seu metabolismo está subdividido em captação, armazenamento, conjugação e secreção hepática. A bilirrubina pode ser encontrada no plasma de forma conjugada, que é hidrossolúvel ou não-conjugada, que está ligada às proteínas, principalmente a albumina, devido à sua insolubilidade. (MORO; SILVESTRI; SILVA, 2004; SCHINONI, 2006).

A Bilirrubina não conjugada (BNC) é produzida pelo catabolismo do heme da hemoglobina e de outras hemoproteínas. A maior parte de bilirrubinas produzidas diariamente resultam da hemoglobina liberada durante a eliminação dos glóbulos vermelhos “envelhecidos” no sistema retículo-histiocitário, principalmente no baço, sendo transportada posteriormente para o fígado pela circulação esplênica. No interior do hepatócito ocorre a conjugação da bilirrubina com o ácido glicurônico sob a ação da glicuronil transferase,

originado monoglucuronídeos e diglucuronídeos de bilirrubina. A BNC é transportada através dos canaliculos sendo reabsorvida na árvore biliar. Para que ocorra a excreção da bilirrubina pela bile é fundamental a sua biotransformação em conjugadas. (MORO, SILVESTRI, SILVA,2004. SCHINONI, 2006).

### 5.3 Lóbulo Hepático

O componente estrutural básico do fígado é a célula hepática, ou hepatócito.

“[...] Estas células epiteliais estão agrupadas em placas interconectadas. Em cortes histológicos, unidades estruturais denominadas lóbulos hepáticos podem ser observadas [...]”(JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008, p.324).

O lóbulo hepático é formado por uma massa poligonal de tecido cujo tamanho oscila em torno de 0,7x2mm. Em algumas regiões da periferia dos lóbulos existe tecido conjuntivo contendo ductos biliares, vasos linfáticos, nervos e vasos sanguíneos, e os espaços porta, estão presentes nos cantos dos lóbulos. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008)

O fígado humano contém de 3 a 6 espaços porta por lóbulo, cada um contendo um ramo da veia porta, com sangue proveniente do trato digestivo, pâncreas e baço, um ramo da artéria hepática, com sangue proveniente do tronco celíaco da aorta abdominal, um ducto biliar, que transporta bile sintetizada pelos hepatócitos que desemboca no ducto hepático e vasos linfáticos, responsáveis por transportar a linfa, que eventualmente entra na circulação sanguínea. Todas estas estruturas estão revestidas por uma membrana de tecido conjuntivo. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Entre os espaços dos hepatócitos estão os sinusóides hepáticos, vasos sanguíneos irregularmente dilatados compostos por uma camada descontínua de células endoteliais fenestradas, adjacentes por uma lâmina basal descontínua e um espaço subendotelial, espaço de Disse, que apresenta microvilos dos hepatócitos. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O sinusóide é composto também por células de Kupffer, que são os macrófagos, constituindo cerca de 15% da população celular do fígado, e a maioria está localizada na região periportal do lóbulo hepático, encontrados na superfície luminal das células endoteliais, e suas principais funções é de metabolizar eritrócitos velhos, digerir hemoglobina, secretar proteínas relacionados com processos imunológicos e destruir bactérias, é circundado e sustentado por uma bainha de fibra reticulares. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

No espaço de Disse, espaço perissinusoidal, células de ITO, responsáveis pelo armazenamento de lipídios, contêm inclusões lipídicas ricas em vitamina A, que desempenham funções de captação, armazenamento e liberação de retinóides, síntese e

secreção de várias proteínas da matriz extracelular e proteoglicanos, secreção de fatores de crescimento e citocinas e regulação do diâmetro do lúmen sinusoidal em resposta a fatores reguladores. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; JAMES, 2005).

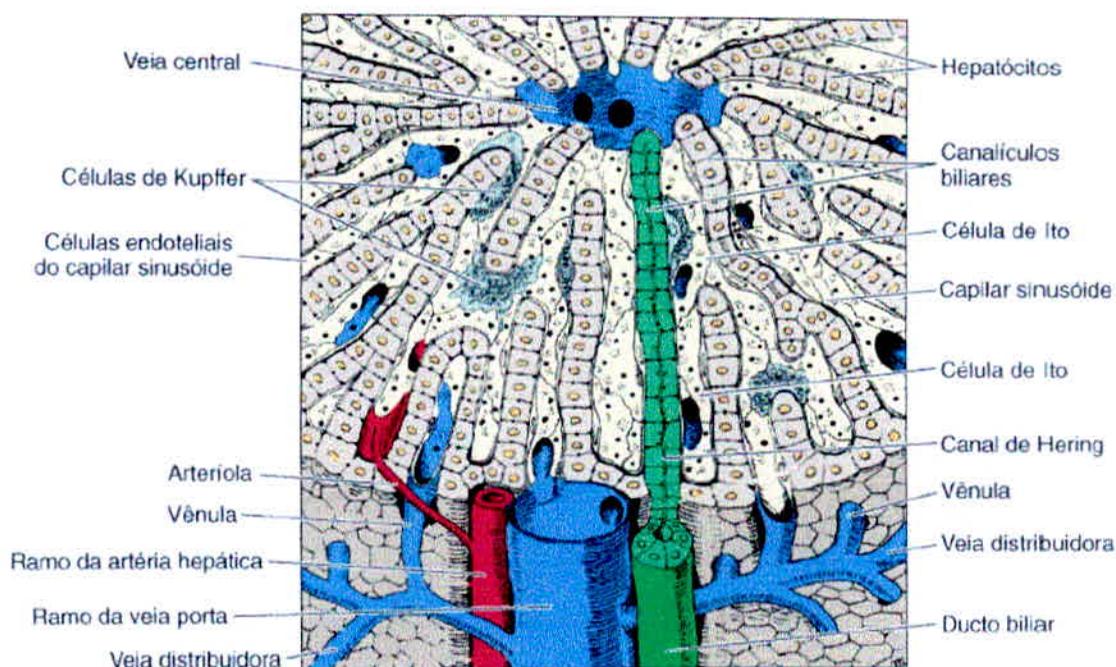


Figura 3: Aspecto tridimensional do fígado normal. Acima, ao centro, está a veia central; embaixo, no centro, está a veia porta. Observar o canaliculo biliar, placas de hepatócitos (cor clara), canais de Hering, células de Kupffer, sinusóides, células de Ito e células endoteliais dos sinusóides. (Cortesia de M Mutto). Fonte: JUNQUEIRA; CARNEIRO (2008).

#### 5.4 Hepatócito

Os hepatócitos são células poliédricas, com diâmetro de 20 a 30mm. Possui grande número de mitocôndrias e algum reticulo endoplasmático liso, o que deixa seu citoplasma eosinofílico, quando corados como hematoxilina e eosina. A sua superfície está em contato com a parede do sinusóide, através do espaço de Disse, e com a superfície de outros hepatócitos. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O parênquima hepático é constituído por hepatócitos, que são células altamente diferenciadas e estáveis, permanecem em estado quiescente, ou seja, na fase G0 do ciclo celular, mais apesar do baixo índice mitótico, entram em divisão celular mediante estímulo tanto de natureza física, quando infecciosa, como tóxica. A lesão do parênquima hepático desencadeia o processo de reparação. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; WLUDARSKI apud PAWLOWSKI; JURA, 2008).

Quando dois hepatócitos se encontram, eles delimitam um espaço tubular entre si conhecido como canaliculo biliar. Os canaliculos, que constituem a primeira porção do

sistema de ductos biliares, são espaços tubulares delimitados pela membrana plasmática de dois hepatócitos e possuem um pequeno número de microvilos no seu interior. As membranas celulares dos canalículos estão unidas por junções comunicantes do tipo gap, sendo importantes na comunicação intercelular, participando do processo de coordenação das atividades fisiológicas dessas células. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

[...] Os canalículos biliares formam uma rede complexa que se anastomosa progressivamente ao longo das placas do lóbulo hepático, terminando na região do espaço porta. Sendo assim, a bile flui progressivamente na direção contrária do sangue, do centro do lóbulo para a sua periferia. Na periferia, a bile adentra os ductos biliares (canais de Hering), constituídos por células cuboidais. Após uma curta distância esses canais cruzam com os hepatócitos limitantes do lóbulo (os mais periféricos) e terminam nos ductos biliares localizados no espaço porta. Ductos biliares são formados por epitélio cubóide ou colunar e possuem uma bainha distinta de tecido conjuntivo. Esse ductos gradualmente aumentam e se fundem, formando o ducto hepático, que subsequente deixa o fígado. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008, p. 329)

O hepatócito é a célula mais versátil do organismo, apresenta funções endócrinas e exócrinas, que também acumula detoxifica e transporta várias substâncias, sintetiza proteínas para sua própria manutenção e proteínas plasmáticas para exportação, armazena lipídios, carboidratos e algumas vitaminas, especialmente a vitamina A, é responsável pela conversão de aminoácidos em glicose, através da gliconeogênese e é o principal sítio de desaminação de aminoácidos, que resulta na formação de uréia. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

### 5.5 Padrões da lesão hepática

A morfologia do fígado confere a ele um número limitado de resposta diante de situações de lesões, independente da causa, cinco respostas gerais são observadas.

A degeneração e acumulação intracelular é um dano geralmente causado por insulto tóxico ou imunológico causando tumefação dos hepatócitos, a tumefação moderada é reversível, quando o dano é mais grave, a chamada degeneração em balão, os hepatócitos intumescidos têm organelas citoplasmáticas irregularmente aglomeradas e grandes espaços claros.

A degeneração plumosa é formada pela lesão hepática colestática, onde o material biliar retido confere uma aparência espumosa difusa ao hepatócito intumescido. Essa lesão pode ser difícil de distinguir da degeneração em balão, exceto pela variável alteração amarela da cor do citoplasma. (JAMES, 2005)

A esteatose é a acumulação de gotículas de triglicerídeos dentro dos hepatócitos, ela pode ser microvesicular, onde a presença de múltiplas gotículas que não desviam o núcleo, e

aparecem nos casos de fígado gorduroso agudo da gravidez e toxicidade pelo ácido valpróico ou macrovesicular onde uma gotícula grande única desvia o núcleo, pode ser vista nos hepatócitos em todo o fígado de indivíduos obesos ou diabéticos e em hepatócitos esparsos em pacientes com infecção viral pela hepatite C. Ambas as esteatose podem ser encontradas no fígado gorduroso alcoólico.

A necrose dos hepatócitos também pode parecer diante de uma injúria hepática, quando as células hepáticas estão pouco coradas e “mumificadas” e com os núcleos lisos é chamada de necrose coagulativa isquêmica. Na morte celular apoptótica, hepatócitos isolados podem reunir-se para formar células retraídas, picnóticas e intensamente eosinofílicas contendo núcleos fragmentados. A necrose lítica acontece quando os hepatócitos intumescem osmoticamente e rompem-se, resultado da degeneração em balão.

A necrose possui uma distribuição zonal.

[...] A mais óbvia é a necrose dos hepatócitos imediatamente em torno da veia hepática terminal (chamada necrose centrolobular, usando a terminologia histórica), que é característica da lesão isquêmica e de várias reações a drogas e tóxicos. Necrose de zona média e periportal puras são raras; a última pode ser vista na eclampsia. Com a maioria das outras causas de lesão hepática, encontra-se uma mistura variável de morte hepatocelular através do parênquima. A necrose de hepatócitos pode ser limitada a células esparsas dentro dos lóbulos hepáticos (necrose focal ou pontilhada) ou à interface entre o parênquima periportal e os tratos portais inflamados (hepatite de interface). No caso de lesão inflamatória mais grave, a necrose de hepatócitos contíguos pode abranger lóbulos adjacentes e uma maneira portal a portal, portal a central, ou central a central (necrose confluyente). Necrose de lóbulos inteiros (necrose submaciça) ou da maior oarte do fígado (necrose maciça) é usualmente acompanhada de insuficiência hepática. (JAMES , 2005, p.922).

A inflamação é uma dos padrões de lesão hepática, o influxo de células inflamatórias agudas ou crônicas é denominada hepatite. A resposta inflamatória poder ser provocada pela necrose tóxica ou isquêmica direita dos hepatócitos. Durante a infecção viral, a destruição de células hepáticas que expressam antígeno por linfócitos citotóxicos é um mecanismo de lesão hepática.

O fígado mantém um perfeito balanço entre ganho e perde celular, e a resposta regenerativa do fígado a diferentes injúrias envolve a proliferação de várias células que constituem o tecido hepático (hepatócitos, células de Kupffer, células de Ito e células de ductais). (WLUDARSKI, 2008 apud FAUSTO, 2005; JAKUBOWSKI et al, 2005; FAUSTO et al, 2006).

A regeneração é uma das características apresentadas no padrão de lesão dos hepatócito, que é uma célula de natureza epitelial altamente diferenciada e classificada com

estável, porque possuiu baixa taxa de duplicação. Contudo sua capacidade de replicação, como acontece com as demais células estáveis, pode aumentar quando estimulada. Proliferam-se em resposta à ressecção tecidual ou morte celular. Ocorre regeneração em quase todas as doenças hepáticas, exceto nas mais fulminantes. A proliferação hepatocelular é marcada por mitoses, espessamento dos cordões de hepatócitos e alguma desorganização da estrutura parenquimatosa. Quando ocorre necrose hepatocelular e o arcabouço de tecido conjuntivo permanece intacto, pode ocorrer restituição quase perfeita da estrutura do fígado, mesmo quando a necrose é submaciça ou maciça. Os hepatócitos podem ser induzidos a sintetizar DNA e a se duplicar após hepatectomias parciais ou administração de agente hepatotóxico como o tetracloreto de carbono. (SIMÕES et. al, 1999. JAMES, 2005).

E o último padrão de lesão hepática é a fibrose tecidual que é formada em resposta à inflamação ou insulto tóxico direto ao fígado. Indica lesão hepática geralmente irreversível. Nas fases iniciais, a fibrose pode desenvolver-se em torno dos tratos portais ou da veia hepática terminal, ou pode ser depositada diretamente dentro do espaço de Disse. A cirrose é a fibrose continuada, o fígado é subdividido em nódulos de hepatócitos em proliferação rodeados por tecido cicatricial. (JAMES, 2005).

A fibrose é uma resposta cicatricial que ocorre em quase todos os pacientes com lesão hepática crônica. Embora a lesão aguda ative mecanismo de fibrogênese, os sinais associados com lesões crônicas causadas por infecções, drogas, desordens metabólicas, abuso de álcool, hepatite não alcoólica ou ataque imune são necessários para a fibrose acumular. (SCHERER, 2010). Há estímulos capazes de aumentar a quantidade da matriz extracelular, processo conhecido como fibrogênese e outros estímulos que operam em sentido contrário quando há excesso da mesma, tal processo recebe o nome de fibrólise. (ANDRADE, 2005).

Quando, por circunstâncias geradas por fatores inflamatórios, degenerativos ou neoplásicos, os estímulos para a fibrogênese superam aqueles da fibrólise, o tecido fibroso se acumula em excesso, constituindo a fibrose. (ANDRADE, 2005). A fibrose é a principal característica da lesão progressiva ao fígado, com a cessação da lesão causal, pode ocorrer regressão lenta da fibrose, porém caso tenha desencadeado a cirrose a reversão é considerada rara. A idade cronológica da fibrose é fator determinante, pois o colágeno, uma esclero-proteína, que dá as principais características à matriz extracelular e à fibrose, quando recém sintetizado pelas células do tecido conjuntivo e depositado extracelularmente pode ser facilmente degradado, uma vez cessado o estímulo fibrogênico. Porém a permanência das fibras na matriz, motivada pela atuação continuada da causa, possibilita modificações

químicas nas moléculas de colágeno, resultando no seu amadurecimento e maior resistência à degradação.

A fibrose é o resultado mais temível das doenças crônicas que afetam o fígado. Os estudos mais recentes demonstram informações básicas sobre os fatores estimulantes da fibrose, assim com os elementos celulares envolvidos na fibrogênese, e as possibilidades de regressão após a remoção da sua causa. O fígado possui elementos celulares capazes de sintetizar e depositar os componentes da matriz extracelular, fibroblastos, miofibroblastos e até os hepatócitos. A célula chave na produção da fibrose no fígado é a célula estrelada de ITO, também conhecidas como células hepáticas estreladas (HSC, Hepatic Stellate Cells), lipócitos, células armazenadoras de gordura, de vitamina A, células intersticiais ou células de Ito, situada no espaço de Disse. Esta é uma célula armazenadora de gordura, vitamina A que, que sob a ação de citocinas fibrogênicas, produzidas por células inflamatórias, hepatócitos e células de Kupffer, se diferencia em miofibroblasto e fibroblasto, produzindo os elementos da matriz. (ANDRADE, 2005; SCHERER, 2010).

## 6 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA

A avaliação da função hepática é feita, na maioria dos casos através das dosagens séricas de albumina, tempo de protrombina e, por vezes, de bilirrubinas.

Muitos resultados podem ser obtidos pelas análises laboratoriais, mesmo na presença de graves lesões hepáticas, a função hepática, em especial as dosagens séricas dos marcadores de função hepática, pode mostrar-se inalterada. Portanto a avaliação da função e lesão hepática não deve incluir apenas essas dosagens e deve ser sempre correlacionada com a clínica do paciente.

Alguns exames que são essenciais para diagnosticar a presença de disfunção hepática, como a determinação do nível de albuminemia, do tempo de protrombina e da bilirrubinemia. Porém, nem sempre existe uma correlação entre os testes laboratoriais bioquímicos e histológicos.

O diagnóstico da Doença Hepática Alcoólica (DHA) depende da junção de informações entre dados clínicos, testes laboratoriais, diagnóstico por imagem, mas o diagnóstico da DHA, do tipo de lesão e de sua atividade, são estabelecidos com exatidão pela realização do exame anátomo-patológico. Os achados histológicos não informam sobre a disfunção hepática, assim não substituem os testes de função hepática.

A alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico-pirúvica (GPT ou TGO) é uma enzima encontrada predominantemente no fígado, onde 90% está localizada no citoplasma e 10% na mitocôndria, e em concentrações menores pode ser encontrada nos rins, coração e músculos esqueléticos. Assim qualquer lesão ou doença que afete o parênquima hepático liberará uma maior quantidade de enzima para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos da ALT. Em geral essa elevação no sangue ocorre por disfunção hepática tornando-a bastante específica para o diagnóstico de doença hepatocelular. A aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico-oxalacética (GOT ou TGO) é uma enzima encontrada em concentração muito alta no músculo cardíaco, no fígado, músculos esqueléticos e em menor concentração nos rins e pâncreas. Nas células hepáticas, a AST localiza-se 40% no citoplasmas e 60% nas mitocôndrias, assim qualquer injúria tissular hepática liberará uma maior quantidade da enzima para o sangue, elevando os seus níveis séricos.

Tabela 1: Enzimas modificadas em problemas hepáticos

FUNÇÃO	ENZIMAS	SIGLA	LOCALIZAÇÃO HEPÁTICA
Detectar lesão no canalículo biliar	Fosfatase alcalina	FALC	Membrana plasmática
	-γ-glutamil transpeptidase sérica	GGT	
	5'-nucleotidase sérica	-	
Lesão nos hepatócitos	Desidrogenase láctica	LDH	Citoplasma e/ou mitocôndria
	Alanina aminotransferase	ALT	
	Aspartato aminotransferase	AST	

Tabela 2: Proteínas e ácidos modificados em patologias hepáticas

FUNÇÃO	PROTEÍNA OU ÁCIDOS
Avalia função excretora biliar	Bilirrubina total, direta e indireta séricas
	Bilirrubina na urina
	Ácidos biliares séricos
Função dos hepatócitos	Albumina sérica
	Avaliação dos fatores de coagulação
	Concentração de fibrinogênio
Metabolismo dos hepatócitos	Amônia sérica
	Teste de exalação com aminopirina
	Eliminação de galactose

## 7 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi empregado o método hipotético-dedutivo, com procedimento de análise do material de pesquisa para reflexões críticas dos resultados.

Os materiais biológicos, soro sanguíneo e o tecido hepático utilizado na pesquisa, foram fornecidos pelo Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

Análises macroscópicas e microscópicas foram realizadas para avaliar o tecido hepático, observando as características próprias do órgão e suas possíveis alterações. Os resultados encontrados foram correlacionados com as descrições na literatura.

As dosagens enzimáticas foram realizadas com o auxílio do aparelho Cobas Mira e a técnica utilizada foi a descrita no protocolo do kit Labtest, utilizando soro obtido das amostras sanguíneas coletadas.

### 7.1 Experimental

Os grupos de animais fornecedores destas amostras fazem parte de um estudo conjunto desenvolvido no Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS). As amostras sorológicas utilizadas neste estudo foram oriundas de Ratos Wistar machos de aproximadamente 200g e obtidas por meio de punção intracardiaca, antes do sacrifício dos animais. Após serem sacrificados por parada cardio-respiratória devido ao de hidrato de cloral utilizado, os mesmos os mesmos foram submetidos a uma incisão abdominal para ressecção do fígado. Estas amostras foram fixadas por formol a 10%, analisadas macroscopicamente e passaram por um processo automático de amostras tissulares. Posteriormente obtivemos películas histológicas por microtomia em parafina. As lâminas foram coradas por HE (hematoxilina, eosina).

A planta *Eclipta prostrata* foi cultivada no horto da farmácia-escola Verde Vida do UNILAVRAS e a infusão preparada e fornecida aos animais deste estudo, no laboratório de farmacotécnica da mesma instituição.

As avaliações macroscópicas dos fígados foram realizadas no laboratório de Hematologia do Centro Universitário do Sul de Minas. Para o processamento tissular das amostras hepáticas, contamos com apoio do Instituto de Medicina Diagnóstica (IMED), localizado no município Três Pontas - MG.

As dosagens bioquímicas foram realizadas no Hemocele Laboratório de Análises Clínicas, em Três Corações - MG.

## 7.2 Amostragem

A população deste estudo foi composta por: (1) grupo controle placebo que receberam apenas água; (2) Grupo controle negativo, ratos que receberam apenas o extrato de *Eclipta prostrata* (3) Grupo controle positivo, ratos que foram tratados apenas com a injeção de tetracloreto (4) Grupo teste, ratos que receberam as injeções de tetracloreto de carbono e foram tratados com a infusão da planta. Totalizando um número de 6 animais por grupo (n =24).

## 8 RESULTADO

O escrutínio das lâminas de histologia revelam poucas alterações sugestivas de lesão hepática, como pode ser observado na tabela 2. Contudo, essas pequenas alterações histológicas somada as mudanças na concentração enzimática sugerem que houve um processo de disfunção hepática.

### 8.1 Análises Histológicas

Os estudos dos achados histológicos de microscopia foram de grande importância para embasar a teoria apresentada pelo presente trabalho.



Imagem 4: Aspecto macroscópico. Microscopia hepática, apresentando uma padrão de normalidade. Fígado de aspecto e tamanho habitual, de coloração castanho-pardacenta, recoberto por cápsula lisa, brilhante e transparente.



Figura 5: Clivagem hepática. Cortes transversais escalonados nada revelando de particular.

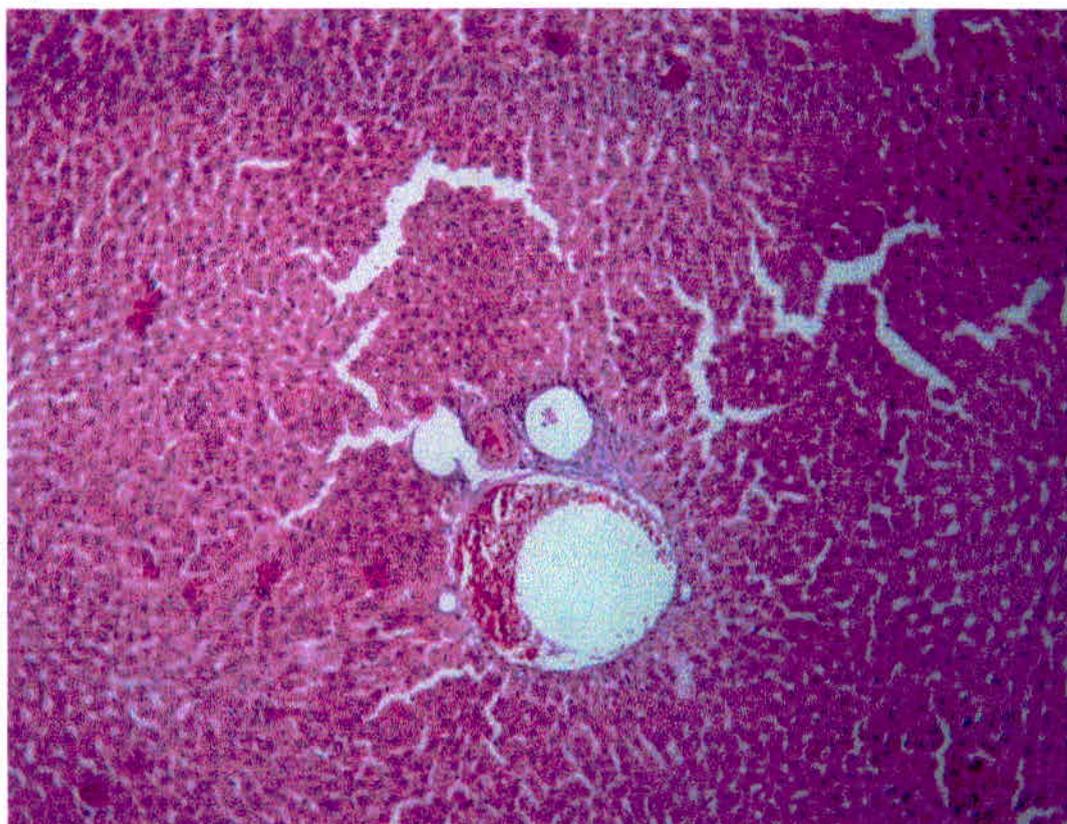


Figura 6: Tecido Hepático normal. Observar o parênquima hepático, a organização dos hepatócitos e a presença do espaço porta (artéria hepática, veia e canaliculo biliar).

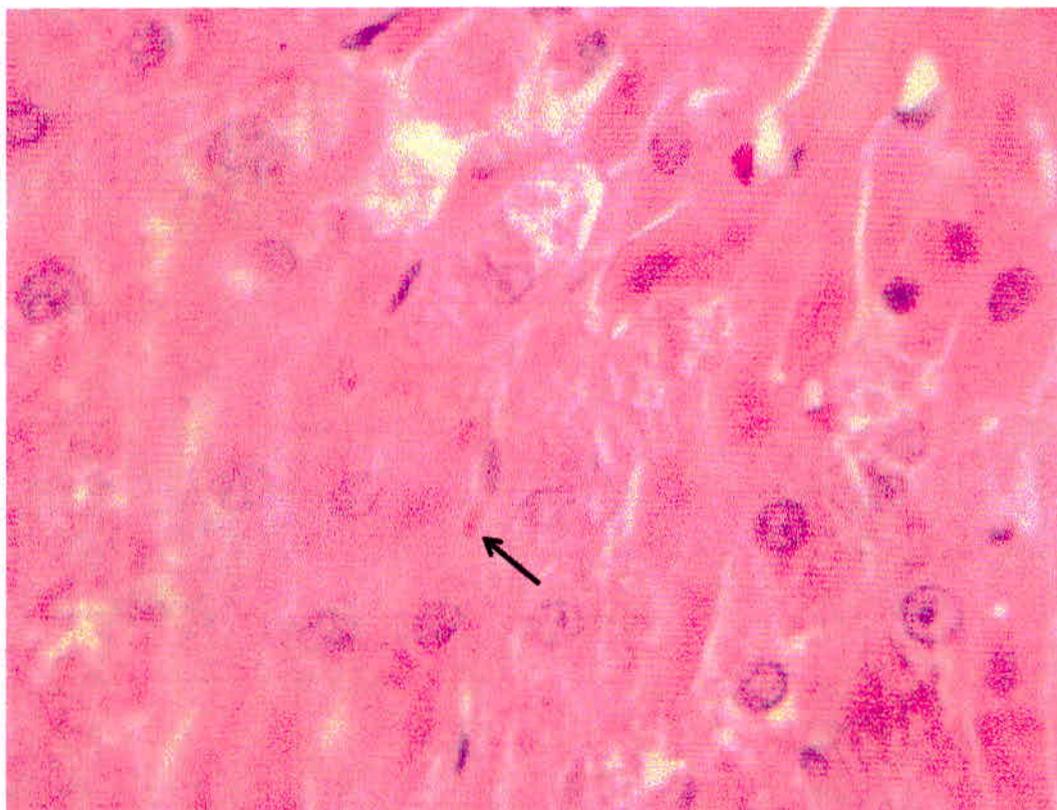


Imagem 7: Colestase. .Presença de focos de colestase sub-capsular. Acumulação do pigmento biliar dentro do parênquima hepático.

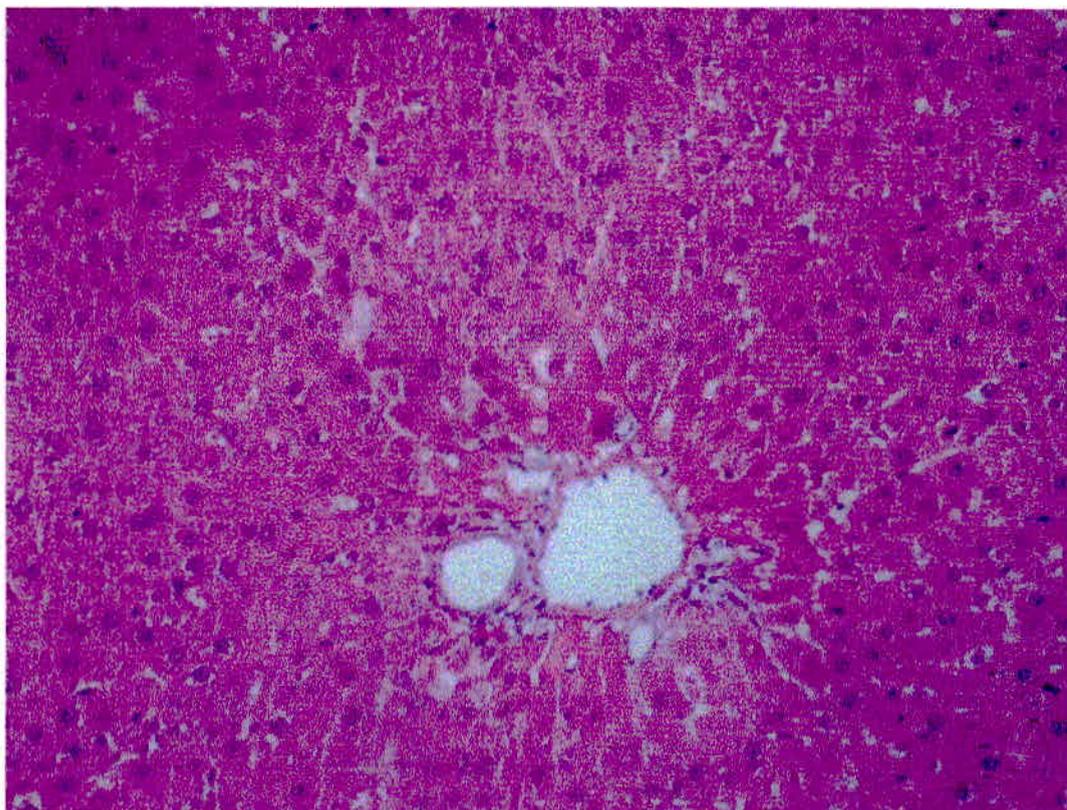


Imagem 8: Tumefação. Áreas com acentuada tumefação hepatocitária. Uma lesão por insulto tóxico pode fazer com que os hepatócitos assumam uma aparência tumefativa, onde eles desenvolvem um aumento de volume citoplasmático.

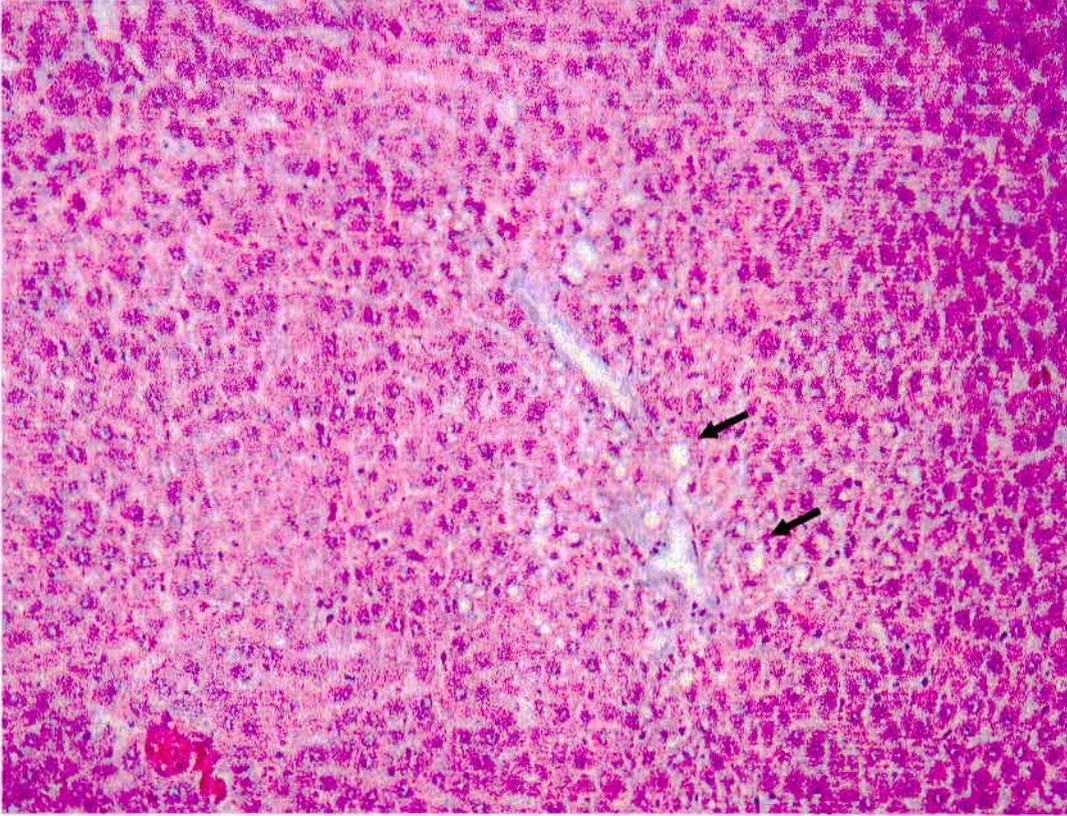


Imagem 9: Esteatose microgoticular peri-portal. Acumulação de diminutas gotículas de lipídeos dentro dos hepatócitos.

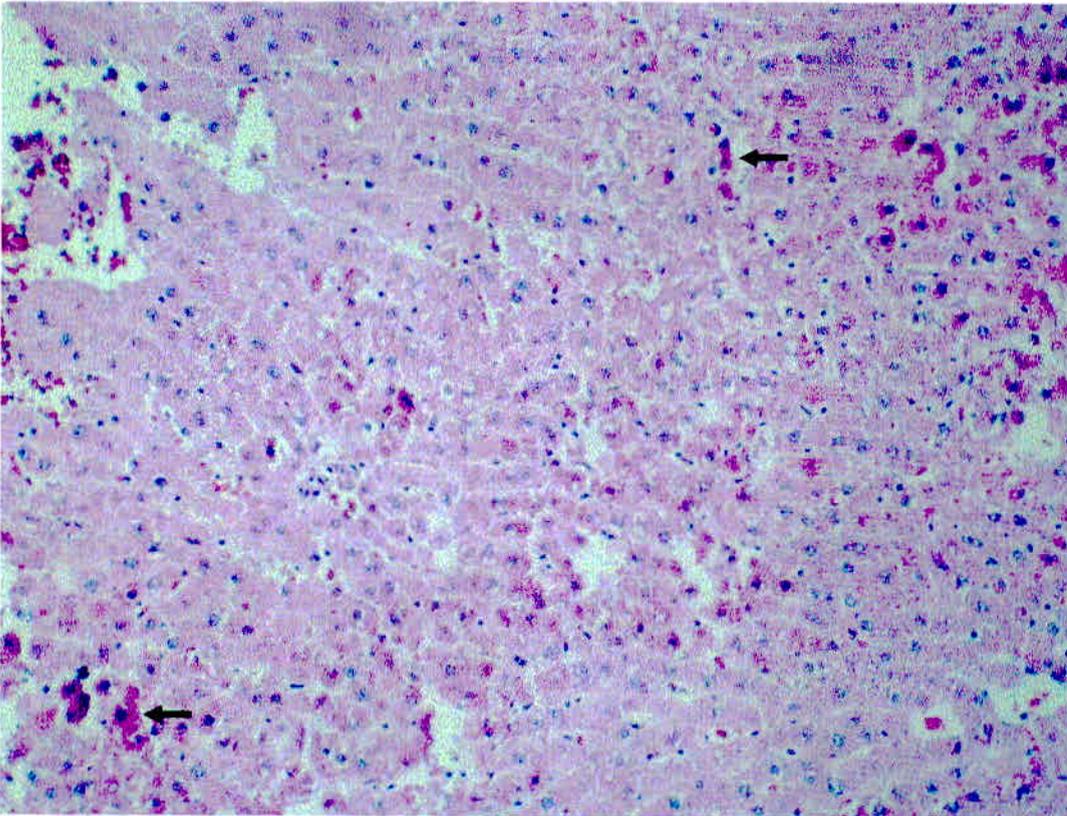
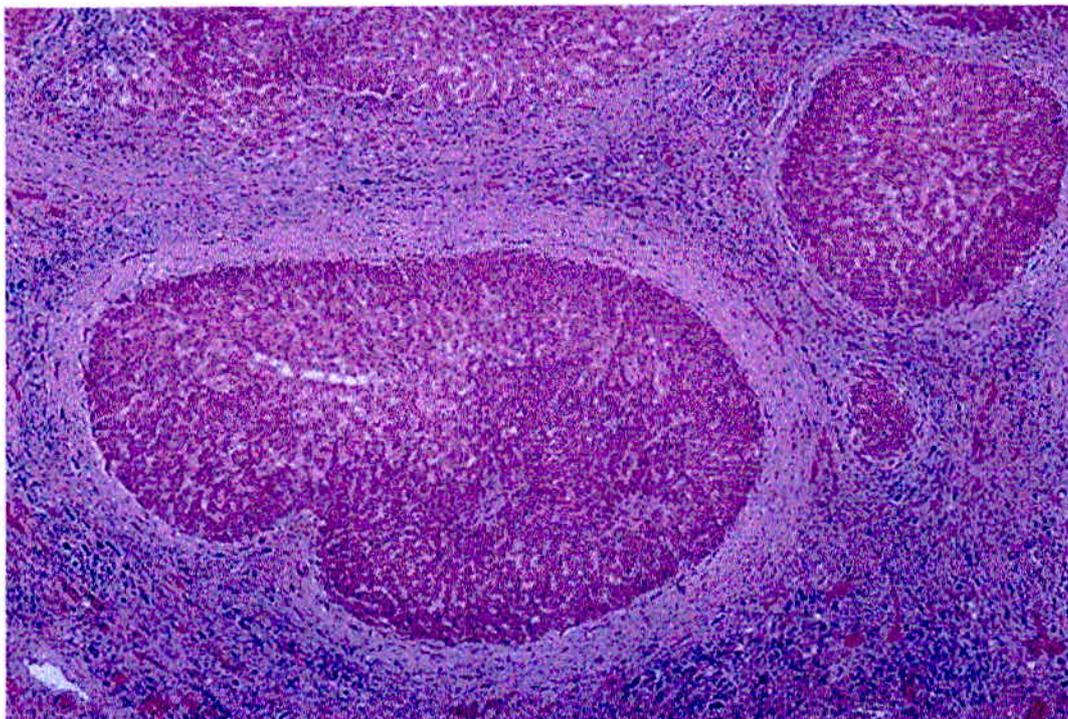


Imagem 10: Necrose. Ocasionais focos de necrose hepatocitária. Qualquer insulto significativo ao fígado pode causar necrose de hepatócitos. Observar a presença de hepatócitos isolados arredondados, com citoplasmas intensamente eosinofílicos e com alguns núcleos fragmentados.



**Imagem 11: Cirrose. Nódulos parenquimatosos, criados por regeneração dos hepatócitos circundados por septos de fibrose. Ruptura da arquitetura do fígado.**

Tabela 3: Resumo dos achados histológicos

<b>GRUPO I - Placebo</b>	
<b>Ratos</b>	<b>Características Histológicas</b>
I, III, IV, V e VI	Presença de discreto infiltrado inflamatório mononuclear portal.
II	Presença de leve a moderado infiltrado inflamatório mononuclear portal
I, II, III, IV, V e IV	Presença de tumefação hepatocitária ao redor de espaços-porta.
I, II, III, IV, V e IV	Ausência de fibrose.
I	Ausência de necrose.
II, III, IV, V e VI	Presença de raros hepatócitos com citoplasma densamente eosinofílicos e núcleos picnóticos e hiper cromáticos.
<b>GRUPO II - Controle negativo</b>	
<b>Ratos</b>	<b>Características Histológicas</b>
I, II, III, V e VI	Presença de discreto infiltrado inflamatório mononuclear portal.
I	Ausência de infiltrado inflamatório.
I	Ausência de tumefação hepatocitária.
II, III, IV e V	Presença de tumefação hepatocitária ao redor de espaços-porta.
VI	Presença de áreas com acentuada tumefação hepatocitária, ao redor de veias centro-lobulares.
I, II, III, IV, V e IV	Ausência de fibrose.
I, II, III, IV e IV	Ausência de esteatose e colestase.
I, II, III, IV, V e VI	Presença de raros hepatócitos com citoplasma densamente eosinofílicos e núcleos picnóticos e hiper cromáticos.
<b>GRUPO III - Controle positivo</b>	
<b>Ratos</b>	<b>Características Histológicas</b>
I,II,III, IV e V	Presença de discreto infiltrado inflamatório mononuclear portal.
VI	Presença de discreto infiltrado inflamatório mononuclear portal, com ocasionais eosinófilos de permeio.
I, II, III, IV, V e VI	Presença de discreta tumefação hepatocitária, ao redor de veias centro-lobulares.
I,II, IV, V e VI	Ausência de esteatose e colestase.
II	Presença de discreta esteatose microgoticular peri-portal.
V	Presença de ocasionais focos de necrose hepatocitária, ao redor de veias centro-lobulares.
I, II, III, IV, V e VI.	Ausência de fibrose.
I, II, III e IV	Presença de raros hepatócitos com citoplasma densamente eosinofílicos e núcleos picnóticos e hiper cromáticos.
<b>GRUPO IV - Teste</b>	
<b>Ratos</b>	<b>Características Histológicas</b>
I,II, III, IV, V e VI	Presença de discreto infiltrado inflamatório mononuclear portal.
I,III, IV	Ausência de tumefação hepatocitária.
II,V e VI	Presença de discreta tumefação hepatocitária, ao redor de veias centro-lobulares.
I,III, IV, V e VI	Ausência de esteatose e colestase.
II	Presença de discreta esteatose microgoticular peri-portal.
II	Presença de raros focos de colestase sub-capsular.
I, II, III, IV, V e VI.	Ausência de fibrose.
I, II, III, IV, V e VI.	Presença de raros hepatócitos com citoplasma densamente eosinofílicos e núcleos picnóticos e hiper cromáticos.

## 8.2 Dosagens enzimáticas

Dentre as análises enzimáticas realizadas nesse estudo, as enzimas Fosfatase Alcalina (Falc) e aspartato aminotransferase (TGO/AST) não apresentaram diferenças na concentração entre o grupo controle positivo e o grupo teste. Apesar disso, como mostrado nos gráficos 1 e 2, essas enzimas não mantiveram a normalidade no grupo controle negativo.

Em contrapartida, a concentração de alanina aminotransferase (TGP/ALT) manteve o índice normal no grupo controle negativo e no grupo teste os valores foram próximos da normalidade. Fatos esses, que podem ser observados no gráfico 3.

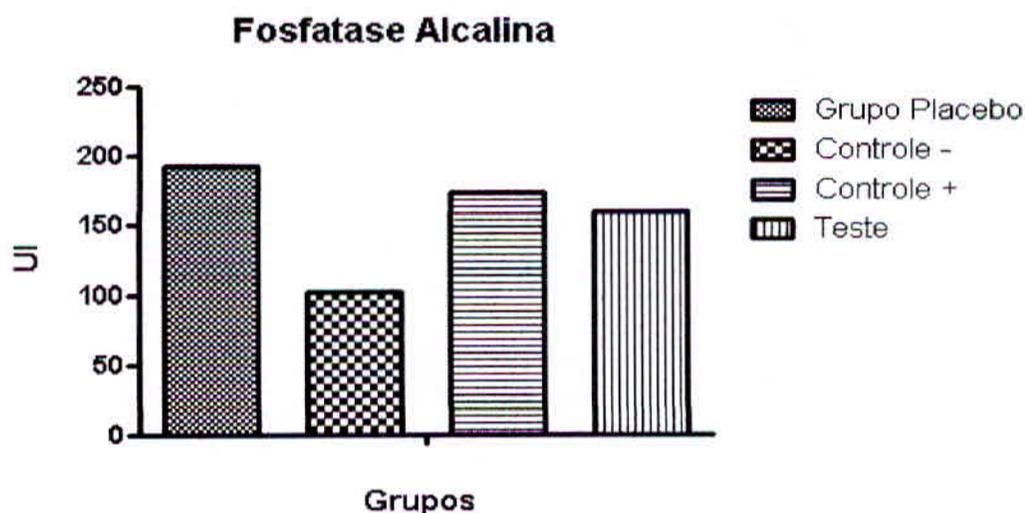


Gráfico 1 : Dosagem enzimática obtida por meio de teste colorimétrico demonstrando a diferença de concentração da enzima entre os grupos estudados.

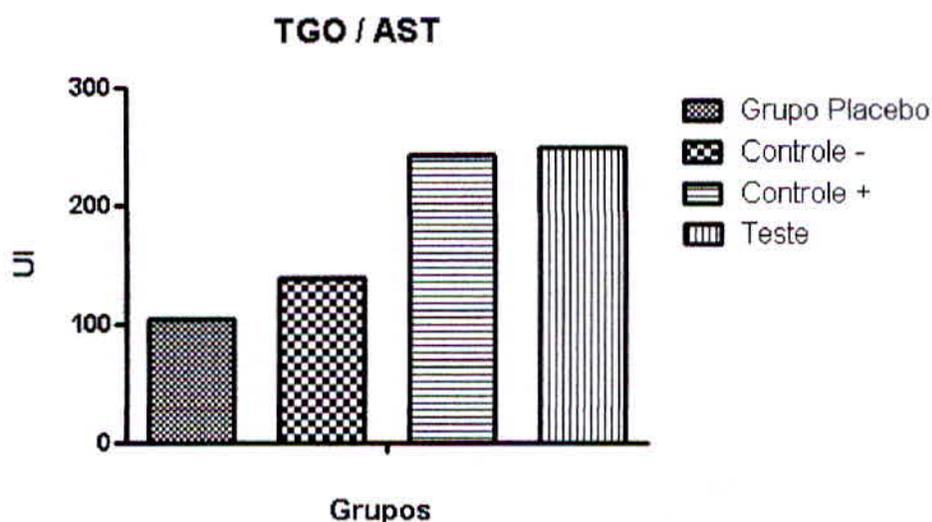


Gráfico 2 : Dosagem de transaminases (TGO) ilustrando a diferença da concentração enzimática entre os grupos

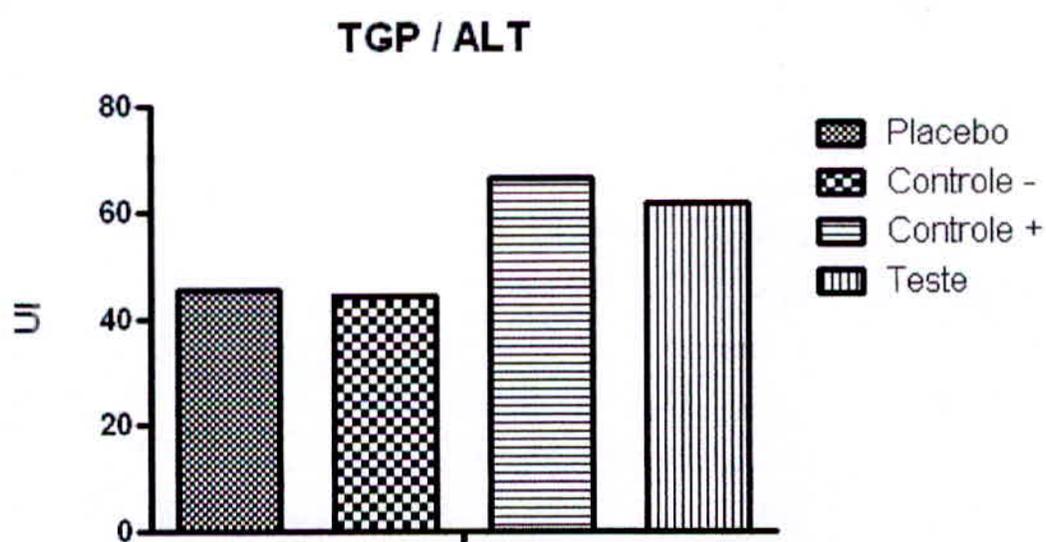


Gráfico 3: Dosagem enzimática e trasaminases (TGP) comparativa entre os grupos de estudo.

## 9 DISCUSSÃO

As análises macroscópicas das peças anatômicas (fígado dos ratos) seguiram um padrão de normalidade, ressaltando que estes foram analisados depois de passarem por um processo de fixação em formol a 10%, e apresentaram características similares, estando revestidos por cápsula lisa, brilhante e transparente, de coloração castanho-pardacenta, nada revelando de particular as cortes transversais escalonados. Salientando que os ratos dos grupos controle negativo e teste, apresentaram uma discreta diferença na sua consistência, que variaram de firme-elástica e mole-borrachuda (figura 4 e 5).

Os resultados obtidos pela análise microscópica demonstram que a planta *Eclipta prostrata* tem a capacidade de influenciar a síntese das enzimas hepáticas e exerce uma moderada influência sobre o tecido hepático. Esses dados podem ser observados com maior clareza quando comparamos a histologia hepática normal (imagem 6), com o tecido do grupo que recebeu somente a infusão (imagem 7), salientando que o segundo grupo apresentou algumas diferenças, com o aparecimento em um dos ratos de esteatose microgoticular e de focos de colestase sub-capsular.

A colestase é uma síndrome onde há uma diminuição do fluxo biliar, podendo aparecer como efeitos de drogas e medicamentos, é identificada nas análises das películas histológicas pela acumulação de pigmento biliar, sendo visualizados na cor amarelo-castanha. O pigmento biliar depositado no interior de canaliculos biliares pode provocar sua dilatação, conseqüentemente a sua ruptura desencadeando o extravasamento da bile, que é fagocitada pelas células de Kupffer. Em algumas situações esse pigmento biliar pode acumular-se dentro dos hepatócitos, que desenvolvem uma aparência espumosa. Essas diferenças citadas, entre o grupo placebo e grupo controle negativo são responsáveis pelas alterações enzimáticas de AST, ALT E FALC, como demonstrado nos gráficos 2,3 e 1 respectivamente, sugerindo a quebra de homeostasia hepática, sendo indicativo que o uso da infusão, sem um dano hepático prévio, propicia um efeito tóxico.

Em contrapartida, os resultados histológicos e enzimáticos do grupo teste, demonstram uma atividade hepatoprotetora da infusão. Embora um dos ratos tenha apresentado áreas com acentuada tumefação hepatocitária (imagem 8), as análises histológicas dos demais membros do grupo teste demonstram um perfil tecidual semelhantes ao grupo placebo.

Ressalta-se que a tumefação, resulta do acúmulo de gordura, água e proteínas, que são exportadas. Sua análise histológica é caracterizada pela visualização microscópica de hepatócitos com o volume aumentado apresentando citoplasma espumoso e núcleos

vesiculosos. Como referido anteriormente, as dosagens enzimáticas desse grupo acompanharam a histologia. No entanto diferente da análise histológica, o resultado enzimático do animal que apresentou tumefação não interferiu na média do grupo, esse fato pode justificar a possibilidade ser um caso isolado no grupo.

Os dados encontrados somados a análise das proteínas da coagulação (dados não mostrados) sugerem que a infusão de *Eclipta prostrata*, pode exercer dois mecanismos distintos, ação hepatotóxica e hepatoprotetora de acordo com o funcionamento hepático.

A histologia do controle positivo apresenta achados de maior relevância quando comparados com o grupo teste e o controle negativo. Fato esse, que era esperado, pois não havia nenhum método a fim de conter a intoxicação ou alguma substância com ação hepatoprotetora. Entre as alterações histológicas encontradas nesse grupo, observamos a esteatose microgoticular peri-portal (imagem 9). Lesão indicativa de intoxicação dos hepatócitos, prejudicando a síntese de lipídeos. Onde pode ser observada a presença de pequenas gotículas lipídicas no hepatócitos.

Outro achado histológico relevante neste grupo foi à presença de ocasionais focos de necrose ao redor de veias centro-lobulares (imagem 10), lembrando que o uso do tetracloreto causa o aparecimento deste tipo de necrose, porém é necessário compreender que as diferenças genéticas individuais no metabolismo hepático dessa substância das vias de ativação e destoxificação tem uma função importante na suscetibilidade de provocar danos a esse órgão, sendo uma das maneiras de comprovar que o uso do tetracloreto sem a presença da planta geram disfunções que poderão dar origem a lesões irreversíveis como a cirrose (imagem 11). Essa alterações nos hepatócitos foram observadas pelas mudanças bioquímica das enzimas AST e ALT, como mostrado no gráfico 2 e 3, que estão presentes no interior das células intoxicadas.

A influência do tetracloreto no tecido hepático provoca o aparecimento da cirrose hepática alcoólica, o que justifica seu uso no nosso modelo. Embora o grupo tratado apenas com tetracloreto não tenha apresentado a cirrose, os achados enzimáticos demonstram um início de disfunção hepática, pois foi possível observar que na presença da infusão a concentração da enzima AST apresenta-se pouco acima do normal. No tratamento e na indução de dano hepático as concentrações de AST mantiveram iguais, o que indica pouca influência da infusão sobre essa enzima quando há processo de agressão. Na presença da infusão a concentração de TGP/ALT, apresenta-se proporcionalmente inalterada e quando utilizada em concomitância com o C14 os valores sugerem, como referido anteriormente, que a infusão não foi capaz de conter a disfunção.

## 10 CONCLUSÃO

O fígado é o órgão central do metabolismo de substâncias no corpo, trata-se de um órgão complexo, sendo responsável por desempenhar várias funções vitais, atuando diretamente na ativação e destoxificação de compostos químicos, estando sujeito a um dano potencial por uma grande variedade de substâncias.

Com os estudos realizados durante essa pesquisa, sugere-se que a planta apresenta duas funções muito distintas são elas: hepatoprotetora e hepatotóxica de acordo com a maneira de administração.

Os resultados apresentados demonstram que a administração apenas da infusão da planta acarretou uma discreta toxicidade hepática, sendo refletida pela manifestação das disfunções do órgão. Em contrapartida, quando utilizada concomitantemente com uma substância com elevada função hepatóxica, a mesma infusão evitou a formação de lesões graves. Contudo algumas questões precisam ser elucidadas para conhecer seu real potencial.

Estudos posteriores com controle de indução sobre a lesão hepática, bem como o isolamento de substâncias que compõe o extrato desta planta; são necessários em experimentos futuros. Desta forma possibilitará um melhor esclarecimento sobre o papel farmacológico hepático exercido por esta planta.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, Zilton A. Regressão da fibrose hepática. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 06, p. 514-520, nov-dez/2005.
- ARANTES, Maria do Carmo Batista et al. Caracterização farmacodiagnóstica de *Eclipta Alba* (L). HASSK, Asteraceae (agrião do brejo). **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**, Goiânia – GO, v. 2, p. 21-24, 2005.
- BERTOLAMI, Marcelo Chiara. Mecanismos de hepatotoxicidade. Instituto Danate Pazzanese de Cardiologia – Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 25-27 out, 2005.
- CARVALHO, Ana C. B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brasília – DF. p. 314-319, abr.-jun 2008.
- JAMES M. Crawford. Fígado e trato biliar. In: KUMAR Vinay; ABBAS K. Abul; FAUSRI, Nelson. **Robbins e Cotran Patologia – bases patológicas das doenças**. Tradução Maria Conceição Zacharias et al. 7ª. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2005. Cap. 18, p. 920-981.
- JUNQUEIRA Luiz C.; CARNEIRO José. Órgãos associados ao trato digestivo. In: \_\_\_\_\_. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 16. p. 323-335.
- KIM, Dae-ik et al. The butanol fraction of *Eclipta prostrata* (Linn) effectively reduces serum lipid levels and improves antioxidant activities in CD rats. *Nutrition Research*, [S. l.], v. 28, p. 550-554, may/2008.
- KIM, Dae-ik et al. The butanol fraction of *Eclipta prostrata* (Linn) effectively reduces serum lipid levels and improves antioxidant activities in CD rats. *Nutrition Research*, v. 28, p. 550-554, may/2008.
- LEE, Mi Kyeong et al. Antiproliferative activity of triterpenoids from *Eclipta prostrata* on hepatic stellate cells. **Phytomedicine**. Republic of Korea, v. 15, p. 775-780, 2008.
- MACHADO, Ana Lourdes da Silva, ROCHA, Rosilene Fernandes, SANTOS, Rita de Cassia Stocco. Hepatectomia parcial: estudo da resposta proliferativa. **Revista Biociências**, v.8, n.2, p. 27-35, dez. 2002.
- MACHADO, Marcel A. Cesar. **Resultados imediatos do acesso intra-hepático aos pedículos glissonianos nas ressecções hepáticas**. São Paulo-SP, 2003. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003
- MATTOS, Sérgio Horta; INNECCO, Renato; ROCHA, Marcos F. A. Determinação da época ideal de corte do agrião-do-brejo. **Revista Horticultura Brasileira**, [S. l.], v. 20, n 02, p. 01-04 jun. 2002.
- MORO, Angela Neves Dal et al. Avaliação clínica de icterícia: Correlação com níveis séricos de bilirrubinas. **Arquivos catarinenses de medicina**, Tubarão- SC. v. 33, n. 04, p.15-22, 2004.

RAMALHO, Fernando Silva, RAMALHO, Leandra Náira Zambelli, ZUCOLOTO, Sérgio, JUNIOR, Orlando Castro e Silva. Regeneração hepática: algumas definições num universo de incertezas. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.8, p 177- 189, 1993.

RHODEN, Ernani Luís, MAURI, Marcelo, PETTEFFI, Leonardo, KLEIN, Adriane Belló, KALIL, Antônio Nocchi, Lima, Luiz Pereira, RHODEN, Cláudia Ramos. Provas de função hepática e lipoperoxidação de membranas celulares: uma forma de avaliação do dano tecidual causado pela isquemia-reperfusão hepática em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 11, p. 19-23, 1996.

SANTOS, E. M. O. et al. **Estudo da ação do LED e do extrato hidroalcoólico de *Eclipta alba* em modelo experimental de edema de pata, induzido pela carragenina**. São José dos Campos: Faculdade de Ciências da Saúde, 2006.

SCHERER, Bárbara de Souza. **Avaliação dos efeitos antifibróticos do suco total e frações da pimenta *Capsicum baccatum* na linhagem celular GRX**. Porto Alegre, RS. Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2010.

SCHINONI, Maria Isabel. Fisiologia Hepática. Faculdade de Medicina da Bahia **Revista Gazeta Médica da Bahia**, Salvador , v. 76, p. 05-09, ago.2006.

SHERLOCK, Sheila. Anatomia e Função. In: \_\_\_\_\_. **Doenças do fígado e do sistema biliar**. Tradução Ivan Mario Braun e Hidelgar Thiemann Buckup. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1985. Cap. 01. p. 01-12.

SILVA, Marisa de Barros Souza e. **Flavonóides com capacidade antioxidante**. [S. l.], Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Nova de Lisboa, 2008.

SIMÕES, Maria de Lourdes Pessole Biondo et al. Hormônio de crescimento na regeneração hepática em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [S. l.], v. 27, n. 02, p. 114 - 117, fev.2000.

SOUZA, S.M.C. **Efeito do extrato hidroalcoólico da *Eclipta prostrata*, em modelo de inflamação *in vivo*, induzida pelo veneno de serpente B Moojent**. São José dos Campos, 2006. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2006.

TEWTRAKUL, Supinva et. al. Antiinflammator constituents from *Eclipta prostrate* using raw264.7 macrophage cells. **Phytotherapy Reseach**, Thainland, v. 25, p. 1313-1316, fev.2011.

TRIVIÑO, Tarcisio; ABIB, Simone C. Vieira. Anatomia cirúrgica do fígado. **Acta Cirúrgica Brasileira**, [S. l.], v. 18, n. 05, p. 407-414, 2003.

WLUDARSKI, Andreia Regina Lordelo. Falência hepática aguda: caracterização e quantificação dos tipos celulares envolvidos. Botucatu, 2008. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu –SP, 2008.

YUNES, Rosendo A.; PEDROSA, Rozangela Curi; CECHINEL FILHO, Valdir. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Revista Química Nova**, [S. l.], v. 24, n. 01, p. 147-152, 2001.

**ANEXO: Aprovação do Comitê de Ética**

**UNILAVRAS**  
Centro Universitário de Lavras  
**CEEA (Comitê de ética em Experimentação Animal)**  
Rua Padre José Poggel, 506 – Centenário 37200-000 Lavras - MG  
<http://www.unilavras.edu.br>



Protocolo 010/2010

Comunico que o projeto intitulado Avaliação da atividade hepatoprotetora da infusão da planta Eclipta prostata foi aprovado pelo CEEA dessa instituição.

Atenciosamente.

Prof. Adolfo de Oliveira Azevedo  
Presidente do Comitê de Ética em Experimentação Animal-UNILAVRAS