

PES160 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E MUTAGÊNICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PETIVERIA ALLIACEA L. (PHYTOLACCACEAE)

JOÃO PAULO BASTOS SILVA¹; PATRÍCIA CARARA DOS SANTOS²; SUELLEN CAROLINA MARTINS DO NASCIMENTO²; MARIA DO CARMO PIMENTEL BATITUCCI³; MARCIENI ATAÍDE DE ANDRADE³

suellencarolina@hotmail.com

¹Mestrado, ²Graduação, ³Doutorado

Universidade Federal do Pará (UFPA), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

Introdução: *P. alliacea* é um arbusto nativo da região Amazônica que possui alegações de uso como analgésico, anti-reumático e para o tratamento de condições respiratórias. O DNA de todos os organismos vivos é constantemente exposto a injúrias e a integridade celular e genômica são mantidas por meio de mecanismos eficazes de reparação e de manutenção. Apesar da existência de tais vias, algumas substâncias encontradas em plantas medicinais podem danificar o material genético e fornecer estresse genotóxico, provocando o envelhecimento celular e desenvolvimento de processos cancerígenos (Abdelmigid, 2013). **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade citotóxica e mutagênica do extrato hidroalcoólico de *P. alliacea* (EHPa) através do ensaio do micronúcleo em roedores. **Métodos:** Partes aéreas de *P. alliacea* (folhas, caule e inflorescências) foram coletadas em abril de 2011 no município do Acará, Pará, Brasil (S 01°29'09.0/W 48°17'94.8). Uma exsicata foi preparada e depositada no Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) sob o registro MG 94354. O EHPa foi obtido através da maceração de 930 g de pó das partes aéreas secas de *P. alliacea* com solução hidroalcoólica a 70% (v/v) por um período de 7 dias. Após a extração, o solvente orgânico foi eliminado em evaporador rotativo e em seguida em estufa para a eliminação de água residual. Foi realizado a triagem fitoquímica seguindo a metodologia proposta por Costa et al. (2000) para a identificação dos principais metabólitos presentes no EHPa. Camundongos machos albinos da linhagem Swiss (*Mus musculus*; 8 semanas de idade) obtidos do biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFES (CEUA/UFES 074/2011) foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (6 animais/grupo). Os grupos teste receberam dose única de EHPa por via oral, nas doses 50, 100 e 250 mg/kg de peso corporal, enquanto o controle positivo recebeu uma dose de ciclofosfamida (50 mg/kg, i.p.) e o controle negativo apenas solução salina fisiológica. O ensaio do micronúcleo foi conduzido conforme descrito em literatura (Schmid, 1975), com modificações. Após o período de tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical e tiveram os fêmures imediatamente dissecados. Dos fêmures foram coletadas as medulas ósseas que foram transferidas para tubos de centrifugação contendo soro fetal bovino (1 mL). O material foi homogeneizado, centrifugado (1000 RPM; 10 min.) e o sobrenadante foi descartado. Após o processo descrito ter sido realizado mais uma vez, o precipitado foi homogeneizado em 0,5mL de soro fetal bovino e a suspensão de células foi espalhada sobre duas lâminas limpas de microscopia, secas ao ar. As células foram fixadas com metanol a 100% e coradas em duas diferentes concentrações de corante Leishman eosina-azul de metileno: a) corante a 100% durante três minutos e b) corante na proporção de 1:6 (Leishman:água destilada, durante quinze minutos) para permitir a diferenciação visual entre eritrócitos imaturos policromáticos (PCE) e eritrócitos maduros normocromáticos (NCE) (Krishna e Hayashi, 2000). A análise de células foi realizada com a utilização de um microscópio óptico, aumento de 1000

vezes. Para avaliar a mutagenicidade foram analisados 2000 eritrócitos imaturos policromáticos (PCE) por animal e a frequência de micronúcleos destes. Para avaliação da citotoxicidade, foram contados 200 eritrócitos (PCE e eritrócitos maduros normocromáticos - NCE) por animal e realizada a relação PCE/(PCE+NCE) para calcular a frequência de PCE. Para análise estatística entre os diferentes grupos de tratamento, foi realizado o teste de Normalidade, seguido do teste de Kruskal-Wallis, ambos a posteriori e a 1% de probabilidade, utilizando-se o software Assitat 7.6 beta.

Resultados e Discussão: A triagem fitoquímica preliminar foi positiva para os metabólitos açúcares redutores, alcaloides e saponinas. Este resultado também foi observado por Oliveira et al. (2013) para os dois últimos metabólitos. Por meio do teste de Kruskal-Wallis, foi observado que, frente aos tratamentos realizados, todas as doses promoveram efeito mutagênico demonstrado pelo aumento da frequência de EPCs-MN (EHPa 50 mg/kg: $10,00 \pm 2,04$; EHPa 100 mg/kg: $8,75 \pm 2,59$; e EHPa 250 mg/kg: $9,58 \pm 2,10$) sem, no entanto, serem comparáveis ao efeito determinado pela Ciclofosfamida (EPCs-MN: $38,91 \pm 7,36$). Com relação a citotoxicidade, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,01$), constatou-se que apenas a dose de 50 mg/kg não apresentou efeito negativo ($0,49 \pm 0,04$), isto é, não se observou atividade citotóxica. Contudo, nos grupos de tratamento de 100 e 250 mg/kg, a relação PCE-NCE foi estatisticamente menor que a do controle negativo (EHPa 100 mg/kg: $0,45 \pm 0,04$; EHPa 250 mg/kg: $0,43 \pm 0,14$ controle negativo: $0,48 \pm 0,03$), indicando que nessas condições a frequência de NCE sofre aumento relevante, caracterizando uma atividade citotóxica. Os resultados sugerem que a possibilidade de danos ao material genético, induzidos EHPa tende a aumentar de acordo com a concentração usada. Portanto, o uso de *P. alliacea* pela população, na forma de extrato, deve ser feita com critério, evitando-se o uso indiscriminado, uma vez que foram percebidos efeitos mutagênicos e citotóxicos, neste estudo.

Conclusão: O EHPa apresentou leve efeito mutagênico e considerável atividade citotóxica em modelo experimental animal. Consideramos que há necessidade de experimentos com concentrações e/ou frações diferentes do extrato e outros organismos ou testes. Tais estudos são necessários, para que haja uma orientação correta de uso ou mesmo uma validação de fitoterápicos que possam ser produzidos a partir da espécie.

Referências Bibliográficas:

- Abdelmigid HM. New trends in genotoxicity testing of herbal medicinal plants. In: Gowder S, editor. New insights into toxicity and drug testing. InTech; 2013. p. 89-120.
- Costa AF. Farmacognosia. 3ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2000.
- Krishna G, Hayashi M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. Mutat Res. 2000; 455 (1-2): 155-166.
- Oliveira DSB, Ramos RS, Almeida SSMS. Phytochemical study, microbiological and cytotoxicity activity in *Artemia salina* Leach, aerial parts of *Petiveria alliacea* L. Phytolaccaceae.
- Schmid W. The micronucleus test. Mutat Res. 1975; 31 (1): 9-15. Biota Amazônia. 2013; 3 (3): 76-82.