

AValiação DA MUTAGENICIDADE DAS PLANTAS *Eriocaulon ligulatum* e *Syngonanthus macrolepsis* ATRAVÉS DO TESTE DE MICRONÚCLEO EM CAMUNDONGOS. Ana Paula Siqueira de Oliveira, Wagner Vilegas, Lourdes Campaner dos Santos, Eliana Aparecida Varanda. – Inter-áreas – Farmácia – Departamento de Ciências Biológicas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Campus de Araraquara.

As espécies *E. ligulatum* e *S. macrolepsis* pertencem à família Eucariolaceae e representam um grupo de monocotiledôneas herbáceas. Muitas são as plantas utilizadas pela população em tratamentos medicinais, entretanto, muito pouco se sabe sobre os verdadeiros riscos e/ou benefícios decorrentes desses tratamentos alternativos. Compostos vegetais, que apresentam comprovada atividade nos tratamentos medicinais, têm também revelado atividades genotóxicas. O teste de micronúcleo é o ensaio *in vivo* mais amplamente utilizado para detecção de agentes que quebram cromossomos e de agentes que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal e foi utilizado nesse estudo para avaliar o potencial mutagênico das plantas *Eriocaulon ligulatum* e *Syngonanthus macrolepsis*. As características básicas do teste são: (i) o efeito do agente químico é observado em eritrócitos policromáticos anucleados (PCEs); (ii) o eritrócito policromático tem um tempo de vida relativamente curto, de modo que qualquer micronúcleo que ele contenha deve ter sido gerado como resultado de danos cromossômicos induzidos recentemente; (iii) os micronúcleos são facilmente identificáveis e a sua distribuição é bem definida; e (iv) a frequência de micronúcleo induzida em eritrócito policromático é dependente do tempo de amostragem (Ribeiro, 2003). Os micronúcleos são analisados em eritrócitos policromáticos (PCEs, eritrócitos jovens) de medula óssea de camundongos ou ratos. Alternativamente, em camundongos, os micronúcleos podem ser analisados em eritrócitos normocromáticos circulantes (NCE, eritrócitos maduros), uma vez que, ao contrário do baço de rato e do homem, o baço de camundongo não sequestra do sangue os eritrócitos contendo micronúcleos (Ribeiro, 2003).

O objetivo desse trabalho foi o de avaliar as atividades clastogênica e aneugênica dos extratos metanólico e clorofórmico da planta *Eriocaulon ligulatum* e etanólico e dicloroetânico da planta *Syngonanthus macrolepsis* através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos Swiss tratados *in vivo*.

O protocolo adotado para a realização de nossos trabalhos foi o descrito por Hayashi et al. (1994). Os extratos foram preparados no Instituto de Química da UNESP, Campus Araraquara-SP, sob a coordenação do Prof. Dr. Wagner Vilegas e da Profa. Dra. Lourdes Campaner dos Santos. Foram empregadas lâminas pré-coradas por Laranja de Acridina. As lâminas (bem limpas) foram aquecidas em uma placa aquecedora a aproximadamente 70°C. Sobre as lâminas quentes, colocou-se 10µL de solução de laranja de acridina. As lâminas foram secas ao ar e guardadas em caixa apropriada, em local escuro, por pelo menos 24h. Com o auxílio de uma agulha, perfurou-se a cauda do animal, coletando-se 5µL de sangue (uma gota) e depositando-o no centro da lâmina previamente preparada com laranja de acridina e cobrindo-a com lamínula. A análise das lâminas foi realizada em microscópio de fluorescência, onde foram contados 2000 reticulócitos por animal e anotadas as frequências de células micronucleadas. Foram empregados camundongos Swiss albinos e avaliadas três doses de cada um dos extratos vegetais, administradas aos animais via *gavage*. Foram coletadas amostras de sangue da cauda dos animais antes de cada tratamento (T_0), obtendo-se assim a frequência basal de micronúcleos para cada indivíduo (controle-interno). Trinta horas depois da administração dos compostos-teste aos animais, foi feita uma nova coleta de sangue para verificação da mutagenicidade aguda dos extratos vegetais. Após a análise citológica das lâminas, foram calculadas as frequências médias de células micronucleadas, bem como os desvios padrão para cada um dos grupos de tratamento. Foi feita a análise de variância através do programa “Instat” e foi utilizado o teste de Student-Newman-Keuls.

Os extratos analisados neste estudo foram: metanólico e clorofórmico da planta *E. ligulatum* e etanólico e dicloroetânico da planta *S. macrolepsis*. Foram analisados os micronúcleos no sangue colhido no tempo zero (t_0), antes do tratamento, e no sangue colhido 30 horas depois do tratamento (t_{30}).

Foi encontrada uma mutagenicidade positiva para ambas as plantas, mas para os extratos de *S. macrolepsis*, os resultados apresentaram maiores níveis de significância.

A análise feita pelo programa Instat é obtida comparando os resultados obtidos, de cada uma das concentrações testadas (menor: 250 mg/kg p.c.; intermediária: 500 mg/kg p.c.; e máxima: 1000 mg/kg p.c.), os resultados obtidos para os controles positivo e negativo também, todos dois a dois.

Foi encontrado um resultado estatisticamente significativo ($P < 0,001$) entre os controles positivos, antes e depois do tratamento, nos extratos de ambas as plantas. Entre as 3 concentrações, comparadas duas a duas, de ambos os extratos, metanólico e clorofórmico, de *E. ligulatum* foi encontrado apenas um resultado estatisticamente significativo ($P < 0,05$).

Para o extrato etanólico de *S. macrolepsis*, foi observado um efeito estatisticamente significativo ($P < 0,05$) para a sua concentração intermediária, antes (t_0) e depois do tratamento (t_{30}). Outro resultado estatisticamente significativo ($P < 0,01$) foi encontrado entre as 3 concentrações testadas, comparadas duas a duas, desse mesmo extrato de *S. macrolepsis*. Um resultado extremamente significativo ($P < 0,001$) foi encontrado, no extrato etanólico, entre as menores concentrações, antes (t_0) e depois do tratamento (t_{30}).

Para o extrato dicloroetânico de *S. macrolepsis* foi encontrado um resultado significativo ($P < 0,05$), depois do tratamento (t_{30}), entre a menor concentração do extrato e a maior concentração do mesmo. Outro resultado estatisticamente significativo ($P < 0,01$) foi encontrado no extrato dicloroetânico, entre o controle negativo e a sua concentração intermediária e entre as concentrações intermediária e máxima, depois do tratamento (t_{30}). Um resultado extremamente significativo ($P < 0,001$) foi encontrado entre as 3 concentrações testadas, comparadas duas a duas; entre o controle negativo (óleo) e a menor concentração e entre o controle negativo e a máxima concentração. Não foi encontrada significância estatística entre machos e fêmeas tratados em nenhum dos tratamentos.

Verificamos em nosso trabalho que as espécies *E. ligulatum* e *S. macrolepsis* induziram aumento da frequência de micronúcleos em sangue periférico de camundongos tratados *in vivo*. A mutagenicidade foi mais acentuada nos animais tratados com *S. macrolepsis*. O estudo fitoquímico realizado pelo Prof. Dr. Vagner Vilegas e Profa. Dra. Lourdes Campaner dos Santos do IQ-UNESP, revelou a presença de paepalantina alopiranosídeo como constituinte majoritário (22%), paepalantina glucopiranosídeo, derivados flavonoídicos da apigenina, da luteolina e da quercetina, na espécie *E. ligulatum*. Na espécie *S. macrolepsis* foram identificados o flavonóide luteolina e seus derivados, todos em proporções semelhantes (10-14 %). No extrato de *E. ligulatum* a mutagenicidade foi somente observada na maior concentração usada e com uma significância ($p < 0,05$) menor que as obtidas para a espécie *S. macrolepsis* ($P < 0,01$ ou $P < 0,001$). Portanto, isso sugere que a luteonina e seus derivados tiveram um papel significativo na mutagenicidade observada nos extratos de *S. macrolepsis*.

De acordo com os resultados obtidos pudemos concluir que ambas as plantas, *E. ligulatum* e *S. macrolepsis* apresentaram mutagenicidade positiva no teste do micronúcleo em camundongos sendo que, *S. macrolepsis* foi a que apresentou maior mutagenicidade. É importante destacar que estudos mais aprofundados devem ser feitos no sentido de melhor caracterizar a substância responsável pelo efeito observado, além disso, esses resultados sugerem cautela no uso dessas plantas com finalidades medicinais devido ao potencial para induzir danos no DNA.

Referências Bibliográficas

Ribeiro, R. L. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores *in vivo*. In: **Mutagenese Ambiental**. Ribeiro, R. L., Salvadori, D. M. F., Marques, E. K. Canoas : ULBRA. 2003. p. 173-200.

Hayashi, M., Tice, R. R., MacGregor, J. T., Anderson, D., Blakey, D. H., Kirsch-Volders, M., Oleson, F. B. Jr, Pacchierotti, F., Romagna, F., Shimada, H., Sutou, S.; Vannier, B. *In vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutation Research*, v. 312, p. 293-304. 1994.

Bolsa: CNPq/PIBIC.

