



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ÁTHINA GOMES DE MENESES CRUZ**

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO E  
ANTIMUTAGÊNICO DO EXTRATO DE *Acanthospermum hispidum*  
(ESPINHO-DE-CIGANO) EM CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO  
DE CAMUNDONGOS DA ESPÉCIE *Mus musculus* (SWISS ALBINO)  
*IN VIVO***

Campina Grande – PB  
2013

ÁTHINA GOMES DE MENESES CRUZ

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO E  
ANTIMUTAGÊNICO DO EXTRATO DE *Acanthospermum hispidum*  
(ESPINHO-DE-CIGANO) EM CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO  
DE CAMUNDONGOS DA ESPÉCIE *Mus musculus* (SWISS ALBINO)  
*IN VIVO*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Estadual da Paraíba Campus de  
Campina Grande – PB como parte das exigências do  
Curso de Graduação de Ciências Biológicas para  
obtenção do título de Biólogo.

Orientador: Prof. Dr. Walclécio Lira

Campina Grande – PB  
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

- C957i Cruz, Áthina Gomes de Meneses.  
Investigação do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato de *Acanthospermum hispidum* (Espinho-de-cigano) em células do sangue periférico de camundongos da espécie *Mus musculus* (Swiss albino) in vivo [manuscrito] / Áthina Gomes de Meneses Cruz. – 2013.  
22 f.
- Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.  
“Orientação: Prof. Dr. Walclécio Morais Lira, Departamento de Biologia.”
1. Micronúcleo. 2. Medicina popular. 3. Genética vegetal.  
I. Título.

CDD 21. ed. 577.5


ÁTHINA GOMES DE MENESES CRUZ

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO E  
ANTIMUTAGÊNICO DO EXTRATO DE *Acanthospermum hispidum*  
(ESPINHO-DE-CIGANO) EM CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO  
DE CAMUNDONGOS DA ESPÉCIE *Mus musculus* (SWISS ALBINO)  
*IN VIVO*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Estadual da Paraíba Campus de  
Campina Grande – PB como parte das exigências Do  
Curso de Graduação de Ciências Biológicas para  
obtenção do título de Biólogo.

Orientador: Prof. Dr. Walclécio Morais Lira

Aprovada em 23 / 08 / 2013



---

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Walclécio Morais Lira / UEPB

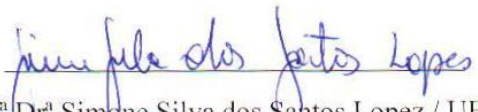
Orientador



---

Prof<sup>o</sup>. Me. José Cavalcante da Silva / UEPB

Examinador



---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Simone Silva dos Santos Lopez / UEPB

Examinadora

# **Investigação do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato de *Acanthospermum hispidum* (Espinho-de-Cigano) em células do sangue periférico de camundongos da espécie *Mus musculus* (swiss albinio) *in vivo***

Cruz. AG <sup>1</sup>; Lira, WM <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Biologia UEPB, Campina Grande, PB

<sup>2</sup> Centro de Ciências Biológicas UEPB, Campina Grande, PB wlira@hotmail.com

**RESUMO:** *Acanthospermum hispidum* é uma planta anual, herbácea, pertencente à família Asteraceae (antiga Compositae). É uma infestante de lavouras agrícolas anuais e perenes conhecida no Nordeste do Brasil pelo nome de espinho de cigano (LORENZI, 2008). *A. hispidum*, tem sido muito utilizada em pesquisas biológicas, com a intenção de comprovar o que diz a medicina popular ou descobrir novas atividades. Neste trabalho, foi analisado o potencial mutagênico e antimutagênico da administração aguda do extrato desta planta em células de camundongos, utilizando o teste de micronúcleo. Os animais, com média de peso corporal de 25g, foram tratados com três diferentes concentrações do extrato (500, 1000 e 2000 mg/Kg de peso corporal). Células do sangue periférico de camundongos foram colhidas 30 horas após o tratamento para o teste de micronúcleo. Os resultados mostraram que o extrato de *Acanthospermum hispidum* não induziu aumentos estatisticamente significativos na média de eritrócitos policromáticos micronucleados nas três concentrações testadas, não demonstrando mutagenicidade e o mesmo também não demonstrou proteção ao material genético de camundongos frente à ciclofosfamida, apresentando resultado negativo para antimutagenicidade.

**Palavras - chave:** *Acanthospermum hispidum*, micronúcleo, teste de mutagenicidade.

**ABSTRACT:** *Acanthospermum hispidum* is an annual plant, herb belonging to the family Asteraceae (formerly Compositae). It is a weed of agricultural crops annuals and perennials in northeastern Brazil known by the name of Thorn gypsy (LORENZI, 2008). *A. hispidum*, has been widely used in biological research, intended to prove that tells folk medicine or discover new activities. In this work, we investigated the mutagenic and antimutagenic potential of acute administration of the extract of this plant into cells of mice using the micronucleus test. Animals, with an average body weight of 25g were treated orally with three different concentrations of the extract (500, 1000 and 2000 mg / kg body weight). Peripheral blood cells were collected from mice 30 hours after treatment for micronucleus test. The results showed that the *Acanthospermum hispidum* extract did not induce statistically significant increases in average micronucleated polychromatic erythrocytes in the three concentrations tested, not demonstrate mutagenicity and the same also showed no protection to the genetic material of mice to cyclophosphamide front, presenting negative for antimutagenicity.

**Key - words:** *Acanthospermum hispidum*, micronucleus, test for mutagenicity.

## 1. INTRODUÇÃO

A busca e o uso de plantas com propriedades terapêuticas é uma atividade que vem de geração a geração, descritos com o intuito de preservar essa tradição milenar e atestada em vários tratados de fitoterapia. (CORREA JUNIOR, 1991).

Deste modo, plantas são usadas como o único recurso terapêutico de uma parcela da população brasileira e de mais de 2/3 da população do planeta. Os principais fatores que influenciam na manutenção desta prática são o baixo nível de vida da população e o alto custo dos medicamentos. Dessa forma, usuários de plantas de todo mundo, mantém em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas algumas informações terapêuticas que foram acumuladas durante séculos (NEWALL et al., 2002).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define plantas medicinais como espécies vegetais que possuem em uma de suas estruturas, ou em toda a planta, substâncias que se administradas ao ser humano ou a animais, por qualquer via e sob qualquer forma, exercem algum tipo de ação farmacológica. Nos países em desenvolvimento 80% das pessoas, na atenção à saúde primária, dependem da medicina tradicional para as suas necessidades básicas de saúde e cerca de 85% da medicina tradicional envolve o uso de extratos de plantas (OMS, 2002). Toda planta medicinal tem por finalidade auxiliar no tratamento e promover a cura das doenças (RIBEIRO, 2007). A definição deste conceito aplica-se pela existência de um princípio ativo; substância que promove o efeito curativo da enfermidade. Além do princípio ativo a planta dispõe do fitocomplexo – conjunto de todas as substâncias presentes na planta, que atua simultaneamente com o princípio ativo na melhoria das moléstias, cuja composição pode ser influenciada por fatores endógenos ou exógenos ao vegetal (CAPASSO et al., 2000).

*Acanthospermum hispidum* pertence à família Asteraceae que é representante da maior família dentre as Angiospermas com 25.000 espécies distribuídas em 1.100 gêneros. No Brasil, é relatada a ocorrência de cerca de 180 gêneros. Conhecida como “a família das margaridas”, é encontrada em todas as partes do mundo, com exceção da Antártica (MARTINS et al., 2006). Esta espécie é facilmente identificável e cresce em abundância durante a estação chuvosa no nordeste do Brasil. Observou-se ainda que esta planta pode ser cultivada sem perda de seu perfil fitoquímico e os estudos toxicológicos apontam para sua segurança como medicamento (ARAÚJO et al., 2008).

Popularmente conhecido como "Espinho-de-cigano" ("Gypsy Thorn"), *A. hispidum* tem sido tradicionalmente utilizado no Nordeste do Brasil para o tratamento de asma, bronquite, febres e como expectorante, como vermífugo e contra dores intestinais (MORAIS et al., 2005; TORRES et al, 2005;. AGRA et al, 2007).

Um levantamento sobre plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará, revelou que as folhas da espécie *A. hispidum* DC. é utilizada no tratamento de 27 doenças infecciosas (MORAIS et al., 2005). A atividade antitumoral do extrato de *A. hispidum* DC sobre linfoma em ratos também foi investigada e os resultados foram positivos (DEEPA; RAJENDRAN, 2007).

Dada a grande variação de composição bioquímica e concentração de componentes bioativos no fitocomplexo, é esperado que uma mesma planta medicinal possa apresentar várias atividades biológicas distintas e em muitos casos, antagônicas entre si (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2009). Potencialmente, toda substância, independente de sua proporção no vegetal e de ser ou não conhecida, pode ser um princípio ativo (FILHO; YUNES, 1998).

Em 1975, Hertz relatou investigações sobre lactonas sesquiterpênicas como princípio ativo de *Acanthospermum hispidum*. As lactonas presentes no vegetal em questão fazem parte de uma grande família de compostos com um amplo espectro de atividade biológica, incluindo as atividades antimicrobianas e antitumorais (ROBERS, 1997).

Segundo Dantas, a espécie *A. hispidum* DC apresenta em todas as partes da planta, alcalóide, tanino catéquico, mucilagem e glicosídeo antraquinônico. De acordo com Hussain, estas plantas também apresentam terpenóides e polifenóis, além de flavonoides, também presentes (ARAÚJO et. al., 2007).

O presente estudo analisou a mutagenicidade e antimutagenicidade do extrato hidrossolúvel de *A. hispidum* através do teste do micronúcleo em sangue periférico de camundongos investigando o potencial clastogênico e/ou aneugênico do extrato em células de camundongos da espécie *Mus musculus* (Swiss albino) através da quantificação de micronúcleos presentes em eritrócitos policromáticos jovens de camundongos.

O micronúcleo se constitui em uma pequena massa nuclear delimitada por membrana e separada do núcleo principal. São formados durante a telófase da mitose ou meiose, quando o envelope nuclear é reconstituído ao redor dos cromossomos das células filhas, resultantes de fragmentos cromossômicos acêntricos ou de cromossomos

inteiros que não foram incluídos no núcleo principal. Assim sendo, o micronúcleo representa perda de cromatina em consequência de dano cromossômico estrutural (fragmento) ou danos no aparelho mitótico. É importante ressaltar que os mesmos são formados durante a mitose, independentemente do tipo de dano ocorrido durante o ciclo. Por isso, os danos no DNA causados, por exemplo, pela exposição a agentes mutagênicos, somente são expressos em micronúcleos após um ciclo de divisão celular, sendo dependentes da proporção de células que estão se dividindo. Consequentemente, a comparação da frequência de micronúcleos entre populações de células em divisão só seria segura quando a cinética de divisão nuclear, após o dano ao DNA, fosse idêntica (FENECH et. al., 1997). Quando formado a partir de um cromossomo inteiro, o micronúcleo irá conter o centrômero do cromossomo (RIBEIRO, 2003).



## **2. REVISÃO LITERÁRIA**

### **2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE MUTAGENICIDADE**

A Genética Toxicológica, na qual especialistas em genética, bioquímica, biologia molecular e toxicologia trabalham para estudar as lesões induzidas por substâncias químicas, é uma nova área de pesquisa que busca compreender a vulnerabilidade do material genético e agressões impostas pelo ambiente. (BROWN, 1999; RIBEIRO, SALVADORI e MARQUES, 2003).

Uma mutação é definida como uma mudança na sequência do DNA, que leva a uma alteração herdável da função gênica. Os agentes que mudam a sequência do DNA são tóxicos para o gene e são chamados, portanto, de genotóxicos. Uma vez que as mutações são frequentemente associadas com o desenvolvimento de câncer e defeitos ao nascimento, o conhecimento do potencial genotóxico de um agente químico industrializado ou naturalmente presente no ambiente, é uma informação essencial para as agências regulatórias, no que se refere ao estabelecimento de risco para o homem. (RIBEIRO, 2003).

O aparecimento de mutações ocorre em todos os seres vivos, sendo um processo imprescindível para a evolução e diversidade das espécies. Muitas das mutações passam despercebidas e não implicam mudanças detectáveis na atividade metabólica da célula ou do organismo. Outras mutações podem se comportar de forma diferente, podendo determinar a morte celular e, por consequência, não são detectáveis. Assim, apenas um pequeno número de mutações que ocorrem em genes específicos pode determinar vantagens ou um crescimento desordenado das células (RIBEIRO e MARQUES, 2003). Segundo Ribeiro e Marques, após passar por várias divisões, uma célula poderá acumular mutações que, se em número elevado, poderão determinar a perda do controle de sua divisão, causando, assim, o aparecimento do câncer.

A mutação pode ser espontânea ou induzida por agentes físicos, químicos ou biológicos, podendo levar a um processo carcinogênico no próprio indivíduo, quando, no caso de mutações em células somáticas. Se ocorrer em células germinativas, pode produzir doenças ou malformações nas gerações futuras (GRIFFITHS et al., 2002).

As mutações são classificadas em três níveis: mutações gênicas, aberrações cromossômicas estruturais e aberrações cromossômicas em número (TAKAHASHI,

2003) como as aneuploidias, estas causadas por agentes aneugênicos e que surgem devido a perdas cromossômicas (número anormal de cromossomos) e defeitos na citocinese (BONATO; SHARAN e CHIUCHETTA, 2006). Uma mudança no material genético (mutação) pode ocasionar mudanças morfológicas sérias, portanto, tornando-se teratogênica, alteração monstruosa (SALZANO, 2002).

## 2.2. TESTE DO MICRONÚCELO

Agentes clastogênicos ou que interferem na formação do fuso mitótico, alterando a distribuição equitativa dos cromossomos durante a divisão celular, podem ser detectados, em uma primeira abordagem, pelo teste do micronúcleo, realizado em mamíferos *in vivo*. (HEDDLE, 1973; MAVOURNIN et al., 1990).

O micronúcleo se constitui de uma pequena massa nuclear delimitada por membrana e separada do núcleo principal. São formados durante a telófase da mitose ou meiose, quando o envelope nuclear é reconstituído ao redor dos cromossomos das células filhas. São resultantes de fragmentos cromossômicos acêntricos ou de cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal; tem sua forma arredondada, com diâmetro de 1/20 a 1/15 do diâmetro do eritrócito. Sendo assim, o micronúcleo representa perda de cromatina em consequência de dano cromossômico estrutural ou dano no aparelho mitótico (SALVADORI, RIBEIRO e FENECH, 2003).

Quando ocorre dano ao aparelho mitótico da célula, os micronúcleos podem ser formados a partir de um cromossomo inteiro ou no próprio cromossomo. Nesta situação, o micronúcleo irá conter o centrômero do cromossomo. Os micronúcleos são analisados em eritrócitos policromáticos de medula óssea de camundongos ou ratos (RIBEIRO, 2003). Os resultados positivos obtidos com o teste do micronúcleo fornecem fortes evidências de genotoxicidade sistêmica da substância química avaliada. Sob condições experimentais apropriadas, os resultados negativos suportam a conclusão de que a substância teste não é genotóxica *in vivo*. Segundo o procedimento original, os micronúcleos são contados nos eritrócitos jovens (HEDDLE, 1973; SCHMID, 1976).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAIS

##### **Material Vegetal:**

O material vegetal foi coletado na região do Cariri Paraibano localizado ao Sul do Estado da Paraíba. A elaboração do extrato foi feita pela equipe da Prof<sup>a</sup>. Ana Cláudia, na Universidade Estadual da Paraíba – UEPB. A amostra estudada constituiu-se de todas as partes da planta (casca, caule e folhas) de *Acanthospermum hispidum*, o material vegetal foi extraído pelo método de percolação.

##### **Agentes químicos:**

Ciclofosfamida, um agente nitrogênico do grupo das oxazoforinas, foi utilizado como agente mutagênico nos grupos de camundongos do controle positivo dos testes de micronúcleo, onde foram tratados via intraperitoneal com 0,3 mL na dosagem de 50mg/kg p.c.

##### **Teste para análise da mutagenicidade e antimutagenicidade**

Para avaliação do potencial mutagênico e antimutagênico *in vivo* foi empregado o teste do micronúcleo em sangue periférico de camundongos *in vivo*.

##### **Animais utilizados:**

Os animais utilizados no experimento para avaliação do potencial genotóxico foram camundongos Swiss (*Mus musculus*), pesando de 25 à 30g, provenientes do Laboratório de Biogenética da Universidade Estadual da Paraíba, Campus I de Campina Grande – PB, tratados com ração comercial e água *ad libitum*, garantida a sua adaptação em sala com cerca de 25 °C, em ciclo claro-escuro de 12 horas e em caixas de polipropileno adequadas a sua manutenção.

#### 3.2. MÉTODOS

##### **Os grupos experimentais**

O experimento foi desenvolvido em oito grupos de camundongos, constituídos cada um por três animais de cada sexo, portanto, seis animais por grupo, totalizando 48

animais utilizados. Foram testadas três doses do extrato, tendo-se como limite a dose máxima permitida por dia, que é de 2000 mg/kg de peso corpóreo, sendo as outras duas de 1000 e 500 mg/kg. Os animais, com média de 25 e 30g, foram pesados e a média total dos pesos foi calculada.

Os camundongos de cada grupo foram tratados com uma dose única do extrato, conforme descrito a seguir.

#### **Mutagenicidade:**

- **Tratamentos 1:** Os camundongos foram tratados com 0,3 ml de solução com o extrato de *Acanthospermum hispidum* nas concentrações de 500 mg/kg.

- **Tratamento 2:** Os camundongos foram tratados com 0,3 ml de solução com o extrato de *Acanthospermum hispidum* nas concentrações de 1000 mg/kg.

- **Tratamento 3:** Os camundongos foram tratados com 0,3 ml de solução com o extrato de *Acanthospermum hispidum* nas concentrações de 2000 mg/kg.

Todos os tratamentos foram realizados via oral (*gavage*), e, 30h após o tratamento, foi realizada a coleta de sangue da cauda dos animais.

#### **Antimutagenicidade:**

- **Tratamentos 4:** Os camundongos foram tratados com 0,3 ml de solução com o extrato de *Acanthospermum hispidum* nas concentrações de 500 mg/kg + ciclofosfamida.

- **Tratamento 5:** Os camundongos foram tratados com 0,3 ml de solução com o extrato de *Acanthospermum hispidum* nas concentrações de 1000 mg/kg + ciclofosfamida

- **Tratamento 6:** Os camundongos foram tratados com 0,3 ml de solução com o extrato de *Acanthospermum hispidum* nas concentrações de 2000 mg/kg + ciclofosfamida

Todos os tratamentos foram realizados via oral (*gavage*) + via intraperitoneal (ciclofosfamida), e, 30h após o tratamento, foi realizada a coleta de sangue da cauda dos animais.

**Controles:**

- **Controle positivo:** Todos os animais deste grupo foram tratados via intraperitoneal com 0,3mL de ciclofosfamida na dosagem de 50mg/kg p.c.
- **Controle negativo:** Todos os animais deste grupo foram tratados via *gavage* com 0,3mL de água.

**Preparação das lâminas:**

Após o período de 30h de tratamento, foi coletada uma gota de sangue da cauda de cada animal tratado e, posteriormente, o sangue foi colocado em uma das extremidades de uma lâmina de vidro e, com auxílio de uma lamínula encostada em ângulo de 45°, foi espalhado uniformemente. Em seguida as lâminas foram postas à secagem em temperatura ambiente, 24h depois as mesmas foram fixadas em Metanol absoluto por 10 minutos, coradas com Giemsa durante o período de 25 minutos e lavadas com água destilada. Foram confeccionadas duas lâminas por animal, totalizando 96 lâminas analisadas.

**Análise Estatística:**

Os resultados foram comparados a partir do teste-t de Student, sendo o Microsoft Excel utilizado como software, onde as médias dos resultados obtidos com os grupos tratados com extrato foram comparadas com as médias dos resultados obtidos com os grupos de controle positivo e negativo.

O teste t de Student é um teste de hipótese que usa conceitos estatísticos para rejeitar ou não uma hipótese nula quando a estatística de teste ( $t$ ) segue uma distribuição t de Student. Utilizado para comparar médias de amostras pareadas ou independentes.

## 4. RESULTADOS

O teste de Micronúcleo tem como características importantes a rapidez e facilidade pela qual a atividade genética pode ser demonstrada *in vivo* e a constatação de que, eventos de natureza cromossômica são muito significativos em termos de riscos para os seres humanos (SALOMONE et al., 1980; MAVOURNIN et al., 1990). Os resultados observados para as respectivas dosagens estão apresentados nas Tabelas e Figuras a seguir.

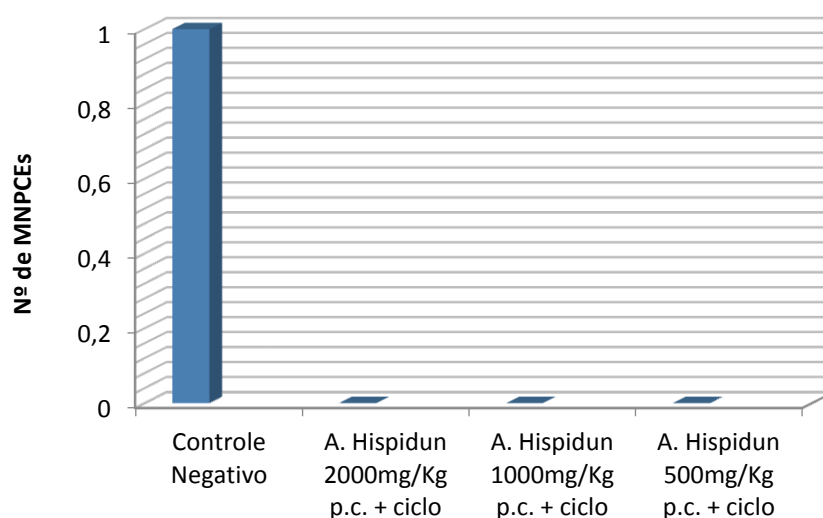
### 4.1. Avaliação da Mutagenicidade

Os dados da Tabela 1 e da Figura 1 mostram os resultados do teste do micronúcleo obtidos em camundongos Swiss fêmeas e machos, tratados com as três doses do extrato de *Acanthospermum hispidum* e os respectivos controles. São apresentados os números de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCEs) para cada animal e a média de cada grupo. De acordo com os resultados obtidos, as diferentes dosagens de *A. Hispidum* não induziram mutagenicidade.

**Tabela 1.** Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média e desvio padrão das dosagens de 500, 1000 e 2000 mg/kg do extrato de *Acanthospermum hispidum*.

Tratamento/Concentração	M1	M2	M3	F1	F2	F3	Média ± SD
Controle Positivo	22	27	24	19	21	29	23,6 ± 3,7
Controle Negativo	1	2	0	0	1	0	0,7 ± 0,8
<i>A. Hispidum</i> 2000mg/Kg p.c.	0	0	1	0	0	0	0,2 ± 0,4
<i>A. Hispidum</i> 1000mg/Kg p.c.	1	0	0	1	0	0	0,3 ± 0,5
<i>A. Hispidum</i> 500mg/Kg p.c.	1	1	1	0	1	0	0,3 ± 0,5

Controle Negativo = Água destilada; SD = Desvio Padrão; P ≤ 0,05.

**Figura 1:** Médias do número de micronúcleos por grupo de tratamento;

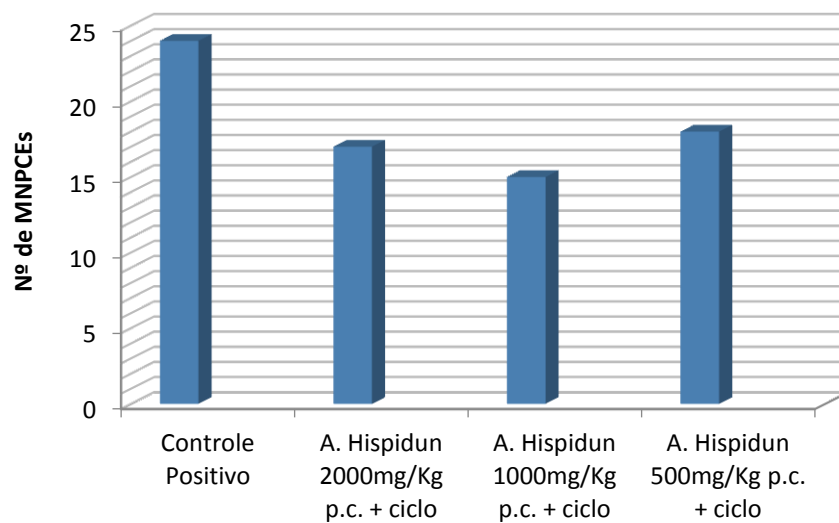
#### 4.2. Avaliação da Antimutagenicidade

Os resultados obtidos na avaliação da antimutagenicidade também foram negativos. Os dados da Tabela 2 e da Figura 2 mostram os resultados do teste do micronúcleo obtidos em camundongos Swiss fêmeas e machos, tratados com as três doses do extrato de *Acanthospermum hispidum* mais ciclofosfamida e os respectivos controles. São apresentados os números de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCEs) para cada animal e a média de cada grupo. A TAB. 2 também mostra a média da razão entre o número de eritrócitos policromáticos (PCE) e normocromáticos (NCE), em 2.000 células analisadas por animal.

**Tabela 2.** Avaliação da atividade antimutagênica expressa pela média e desvio padrão das dosagens de 500, 1000 e 2000 mg/kg do extrato de *Acanthospermum hispidum* + ciclofosfamida.

Tratamento/Concentração	M1	M2	M3	F1	F2	F3	Média ± SD	PCE/200NCE
Controle Positivo	22	27	24	19	21	29	23,6 ± 3,7	9,0
<i>A. Hispidun</i> 2000mg/Kg p.c. + ciclo	16	20	12	18	19	16	17 ± 2,8	2,8
<i>A. Hispidun</i> 1000mg/Kg p.c. + ciclo	13	10	19	15	15	17	15 ± 3	8,1
<i>A. Hispidun</i> 500mg/Kg p.c. + ciclo	20	16	22	19	16	12	17,5 ± 3,5	8,5

Controle Negativo = Água destilada; SD = Desvio Padrão; P ≤ 0,05.

**Figura 2:** Médias do número de micronúcleos por grupo de tratamento



## 5. DISCUSSÃO

O teste de micronúcleo (MN) em roedores é um importante método de citogenética rotineiramente utilizado para avaliar a genotoxicidade (PRESTON et al, 1987; KRISHNA et. al., 1991). Plantas medicinais, da mesma forma que os medicamentos sintéticos, possuem grupos de compostos farmacologicamente ativos que atuam no organismo. O emprego terapêutico dessas plantas exige o conhecimento desses grupos para a avaliação das potencialidades terapêuticas, tóxicas e para a formulação de uma estratégia adequada para seu uso. Estudos sobre propriedades químicas de plantas medicinais, associando o extrato dessas plantas às atividades toxicofarmacológicas, são pouco encontrados, especialmente com relação ao seu potencial mutagênico.

No presente estudo, os resultados do teste in vivo de mutagenicidade, representados na Tabela 1, demonstraram que as três doses de *A. Hispidum*, quando comparados aos grupos de controle negativo, não mostraram nenhum aumento significativo no número de eritrócitos microucleados no sangue periférico de camundongos Swiss albinos, o que demonstra o resultado negativo para mutagenicidade em *A. Hispidum*.

Trabalhos realizados por Magalhães et. al., demonstram que os flavonoides, que são considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários, têm se destacado por apresentarem diversas propriedades farmacológicas, agindo como antitumorais, anti-inflamatórios, antioxidantes, antivirais, fungicidas, antiprotozoários, bem como na redução de riscos de doenças cardiovasculares assim como os taninos, que são descritos na literatura como compostos com atividades antimutagênica (DAUER et al., 2003), antioxidante (HASLAM, 1996), antitumoral (SALEEM et al., 2002), dentre outras. Porém, segundo Chung et. al. e Singh, os taninos são considerados nutricionalmente indesejáveis porque precipitam proteínas, inibem enzimas digestivas e afetam a utilização de vitaminas e minerais podendo, ainda, em alta concentração, desenvolver câncer de bochecha e esôfago, o que demonstra uma discrepância entre os dados da literatura quanto a atividade carcinogênica de taninos.

Com relação a antimutagenicidade, os resultados também se mostraram negativos quando comparados ao controle positivo na TAB. 2 demonstrando que o estudo não revelou proteção ao material genético mesmo com presença de taninos e

flavonoides, considerados antitumorais, constatando uma necessidade de estudos posteriores com quantidades elevadas do extrato em questão para que se possa melhor avaliar uma atividade antimutagênica realizada pelos taninos e flavonoides presentes no extrato de *Acanthospermum hispidum*.

Porém, mesmo o extrato não se apresentando de forma mutagênica e antimutagênica, o mesmo se mostrou citotóxico às células dos camundongos através da alteração da razão PCE/NCE dentre as dosagens utilizadas, o que pode ter sido decorrente da presença dos taninos, que também apresentam atividades tóxicas (AYRES et. al, 1997). Trabalhos realizados por Ayres verificaram que a rápida mortalidade de insetos tratados com taninos condensados parece ser devido à atividade tóxica destes compostos e não pela inibição da digestibilidade. Segundo Scalbert, elagitaninos dímeros são mais adstringentes que os monômeros, deste modo, se a toxicidade é devido a sua adstringência, a alta toxicidade está intimamente associada ao maior peso da molécula. Outro mecanismo de toxicidade, que pode envolver os taninos, deve-se ao fato desses complexarem-se com facilidade a íons metálicos, pois, sistemas biológicos, incluindo microorganismos, necessitam de íons metálicos como cofatores enzimáticos (SCALBERT, 1991).

## 6. CONCLUSÃO

- As três dosagens (500mg, 1000mg e 2000mg) testadas do extrato de *Acanthospermum hispidum* não apresentaram efeitos mutagênicos sobre as células de camundongos *Swiss* albinos submetidos ao teste do micronúcleo.
- As dosagens de *Acanthospermum hispidum* (500mg, 1000mg e 2000mg), quando combinadas ao agente mutagênico (ciclofosfamida), não apresentaram efeitos de antimutagenicidade contra o agente sobre as células de camundongos *Swiss* albinos submetidos ao teste do micronúcleo, demonstrando que o extrato de *A. hispidum* não é capaz de proteger o cromossomo contra a mutagenicidade causada pela ciclofosfamida.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA MF, FRANÇA PF, BARBOSA-FILHO JM 2007. **Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil.** *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.

AGRA M.F., SILVA K.N., BASÍLIO I.J.L.D., FRANÇA P.F., BARBOSA FILHO J.M. 2008. **Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil.** *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.

ARAÚJO, E. L. et. al. ***Acanthospermum hispidum* DC (Asteraceae): perspectives for a phytotherapeutic product.** *Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba, V.18, Suplemento, 2008.*

ARAÚJO, E. L.; RANDAL, K. P.; XAVIER, H. S.; FERREIRA, C. P.; PIMNTEL, R. M. M. **Padronização farmacognóstica das raízes de *Acanthospermum hispidum* DC. (Asteraceae).** *Revista Brasileira de Farmácia. V.88, n.4, 2007.*

AYRES, M. P.; CLAUSEN, T. P.; MACLEAN, S. F.; REDMAN, A. M.; REICHARDT, P. B.; *Ecology* 1997, 78, 1696.

BONATO, C.P. do N.; SHARAN, C.R.; CHIUCHETTA, S.J.R. **Avaliação do potencial aneuploidogênico do antineoplásico taxol exposto à linhagem diploide de *Aspergillus nidulans*,** 2006.

BROWN, T.A. **Genética: um enfoque molecular.** 3. ed. Rio de Janeiro (RJ):Guanabara Koogan, 1999. 336p.

CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. **Phytotherapy and quality of herbal medicines.** *Fitoterapia, n. 71, 2000, p. 58.*

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G.; **Trends Food Sci. Technol.**1998, 9,168.

CHUNG, K.; WONG, T. Y.; WEI, C.; HUANG, Y.; LIN, Y.; **Crit. Rev. Food Sci.Nutrition**1998, 38, 421.

CORRÊA JUNIOR, C., LIN, C.M., SCHEFFER, M.C. SOB, **Informa,** p. 9, 23, 1991.

DANTAS, I. C. **O raizeiro e suas raízes.** Campina Grande: EDUEP, 2007. 156p.

DAUER, A.; HENSEL, A.; LHOSTE, E.; KNASMULLER, S.; MERSCH-SUNDERMANN, V. **Genotoxic and antigenotoxic effects of catechin and tannins from the bark of *Hamamelis virginiana* L. in metabolically competent, human hepatoma cells (HEP G2) using single cell gel electrophoresis.** *Phytochemistry, New York, v. 63, n. 2, p. 199-207, 2003.*

DEEPA, N.; RAJENDRAN, N. N. **Anti-tumor activity of *Acanthospermum hispidum* DC on dalton ascites lymphoma in mice.** *Natural Product Sciences*, v. 13, n, 3, p. 234-240, 2007.

DUTRA, C. **Avaliação do potencial de actinomicetos no trabalho de efluentes de indústrias que processam madeira.** 1997. Tese. (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade Federal do rio de Janeiro, rio de Janeiro.

FENECH, M. **The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method.** *Mutation Research* 391: 11-18; 1997.

FILHO, V. C.; YUNES, R., A. **Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a partir de Plantas Medicinais. Conceitos sobre a modificação estrutural para otimização da atividade.** *Química nova*, 21, 1. 1998.

GRIFFITHS, A.J.F. et al. **Introdução à Genética.** 7. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2002. 794p.

HASLAM, E. **Natural polyphenols (vegetal tannins) as drug: Possible modes of action.** *Journal of Natural Products*, Cincinnati, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

HAYASHI, M. et al. **The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides.** *Mutation Research*, Tokyo/Japan, v.245, n.4, p.245–249, dec. 1999.

HEDDLE, J.A. **A rapid in vivotest for chromosome damage.** *Mutatio Research*, v.18, p.187–190, 1973.

HERZ, W. K. PS 1975. **Acanthospermal A and acanthospermal B, two new melampolides from *Acanthospermum hispidum* species.** *J Org Chem* 40: 3486-3491.

HUSSAIN R. A., Lin Y, Poveta LJ, Bordas E, Chung BS, Pezzuto JM, Soejabto DD, Kinghom AD 1990. **Plant-derived sweetening agents: Saccharide and polyol constituents of some sweet-tasting plants.** *J Ethnopharmacol* 28: 103-115.

KRISHNA, G., KROPKO, ML., CIARAVINO, V. AND THEISS, JC. 1991. **Simultaneous micronucleus and chromosome aberration assessment in the rat.** *Mutation Research*, vol. 264, no. 1, p. 29-35.

LEITE M.P., FASSIM Jr. J, BAZILONI E.M.F., ALMEIDA R.N., MATTEI R, LEITE JR 2008. **Behavioral effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. inhalation in rats.** *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 661-666.

LORENZI, H.. 4<sup>a</sup>.ed. Nova Odessa, SP: Ed. **Plantarum**, 2008. 640p.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; MAGALHÃES, E. G.; NOGUEIRA, M. A.; QUEIROZ, S. C. N.; **Phytochemistry** , 2000, 55, 787.

MARTINS, L. L. R. et al. **Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de 1H e 13C do acetato de acantoaustralida.** Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba, v.16, n.4, p. 490-496., 2006.

MAVOURNIN, K.H. et al. **The in vivomicronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood.** A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutation Research, v.239, n.1, p.29-80, jun.1990.

MORAIS S.M., DANTAS J.D.P., SILVA A.R.A., MAGALHÃES E.F. 2005. **Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará.** *Rev Bras Farmacogn* 15: 169-177.

NEWALL C. A., ANDERSON, LA, PHILLIPSON, JD, **Plantas Medicinas: Guia para profissional de saúde.** Ed. Premier, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Estratégia de La OMS sobre medicina tradicional 2002-2005.** Genebra, 2002.

PERAZZO F.F., LIMA L.M., MAISTRO E.L., CARVALHO J.E., REHDER V.L.G., CARVALHO J.C.T. 2008. **Effect of *Artemisia annua* L. leaves essential oil and ethanol extract on behavioral assays.** *Rev Bras Farmacogn* 18: 686-689.

PERAZZO F.F., CARVALHO J.C.T., RODRIGUES M., MORAIS E.K.L., MACIEL M.A.M. 2007. **Comparative anti-inflammatory and antinociceptive effects of terpenoids and an aqueous extract obtained from *Croton cajucara* Benth.** *Rev Bras Farmacogn* 17: 521-528.

PERGENTINO de SOUZA D., FARIAS NÓBREGA F.F., ALMEIDA R.N. 2007. **Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study.** *Chirality* 19: 264-268.

PRESTON, R.J., DEAN, B.J., GALLOWAY, S., HOLDEN, H., MCFEE, AF. AND SHELBY, M. 1987. **Mammalian in vivo cytogenetic assays: analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells.** *Mutation Research*, vol. 189, no. 2, p. 157-165.

RABELLO-GAY, M.N.; RODRIGUES, M.A.L.R.; MONTELEONE-NETO, R. **Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese: Métodos e Critérios de Avaliação.** Ribeirão Preto (SP): Sociedade Brasileira de Genética/ Revista Brasileira de Genética, 1991. 112p.

RIBEIRO, D. **Fitoterapia.** Disponível em: <http://www.teiadavida.com.br/fitoterapia/fitoterapia.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2013.

RIBEIRO, D.A.; MARQUES, M.E.A.; SALVADORI, D.M.F. **Study of DNA damage induced by dental bleaching agents in vitro.** *Braz. Oral Res.*, Botucatu (SP) Brazil, v.20, n.1, p.47-51, 2006.

RIBEIRO, L.R.; MARQUES, E.K. **A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana.** In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. *Mutagênese Ambiental Canoas: ULBRA*, 2003, p.21-27.

RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese Ambiental**.1<sup>a</sup> ed. Canoas: ULBRA, 2003. cap.7, 356 p.

RIBEIRO, L.R. **Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo**. In:RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: ULBRA, 2003. cap.7, p.173–198.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. Editora Ulbra. Canoas: 1<sup>a</sup> edição, 2003.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K., TYLER, V. E. 1997. **Farmacognosia e Farmacobiocnologia**. São Paulo: Editorial Premier.

SALEEM, A.; HUSHEEM, M.; HARKONEN, P.; PIHLAJA, K. **Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of Terminalia chebular etz. fruit**. Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v. 81, n. 3, p. 327-336, 2002

SALOMONE M, Heddle J, Stuart E and Katz M (1980) **Towards an improved micronucleus test: studies on 3 model agents, mitomycin C, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene**. *Mutat Res* 74:347-356.

SALVADORI, D.M.F.; RIBEIRO, L.R.; FENECH, M. **Teste do micronúcleo em células humanas in vitro**. In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: ULBRA, 2003. cap.8, p.201–223.

SALZANO, F.M. **Saúde pública no primeiro e terceiro mundos: desafios e perspectivas**. Ciências & Saúde Coletiva, Porto Alegre (RS), v.7, n.1, p.7–16, out. 2002.

SCALBERT, A.; **Phytochemistry**1991, 30, 3875.

SCHMID, W. **The micronucleus test**. Mutation Res. v. 31, p. 9-15, 1975.

SCHMID, W. **The micronucleus test for cytogenetic analysis**. In:HOLLAENDER, A. (Ed.). Chemical mutagens: principles and methods for their detection. New York: Plenum Press, 1976. v.4, p.31–53.

SINGH, B.; BHAT, T. K.; SHARMA, O. P.; **Livestok Production Science** 2001, 68, 259.

SOUSA D.P., NÓBREGA F.F.F., CLAUDINO FS, ALMEIDA R.N., L EITE J.R., MATTEI R. 2007. **Pharmacological effects of the monoterpene,-epoxy-carvone in mice**. *Rev Bras Farmacogn* 17: 170-175.

TAKAHASHI, C.S. **Testes citogenéticos in vitro e aneuploidia**. In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: ULBRA, 2003. 356p

TÔRRES, A.R., OLIVEIRA R. A. G., DINIZ M. F. F. M., ARAÚJO E. C. 2005. **Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios.** *Rev Bras Farmacogn* 15: 373-380.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical databases. Base de dados.** Disponível em: <http://www.ars-grin.gov/duke/>. Acesso em: 16 abr. 2010.