



**ESTUDO DOS EFEITOS MUTAGENICOS DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE *Campomanesia xanthocarpa* UTILIZANDO O TESTE SALMONELLA/MICROSSOMA**

Fernanda Brião Menezes Boaretto<sup>1</sup>

Joubert Aires de Souza<sup>2</sup>

Jaqueline Nascimento Picada<sup>3</sup>

**Resumo**

As plantas com indicação terapêutica necessitam da comprovação da sua segurança, pois podem causar alterações no DNA, sendo que os riscos são ainda maiores quando os usos ocorrem de forma descontrolada. *Campomanesia xanthocarpa* Berg. é uma planta medicinal e alimentícia pertencente à família Myrtaceae, que apresenta ações como antidiarreica, anti-inflamatória, anti-reumática, antiulcerogênica, antitricomonas, antimicrobiana, antiplaquetária, antitrombótica, atividade fibrinolítica e redução de peso. Os extratos da planta diminuíram os níveis de glicemia em ratos diabéticos e reduziram os níveis de colesterol em pacientes hipercolesterolêmicos com a redução dos níveis de triglicerídeos e LDL em humanos. Porém há poucos estudos relatando seus possíveis efeitos genotóxicos. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial mutagênico do extrato aquoso das folhas de *Campomanesia xanthocarpa*, utilizando o teste *Salmonella*/microsoma (teste de Ames) na presença e na ausência de S9mix. O extrato foi mutagênico para as linhagens que detectam mutações por deslocamento no quadro de leitura e danos oxidativos somente na ausência de metabolização.

Palavras-chave: *Campomanesia xanthocarpa*, planta medicinal, mutação.

**INTRODUÇÃO**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a doença cardiovascular é a principal causa de morte no mundo, perfazendo 30% das mortes globais, sendo que a base fisiopatológica para os eventos cardiovasculares é a formação da placa de ateroma na parede dos vasos sanguíneos, bem como suas consequências clínicas, infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico (Santos et al., 2013).

Sabe-se que as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no mundo e que uma forma de reduzir esta situação seria diminuir os fatores de risco relacionados com esta doença, dentre eles a hipercolesterolemia. Embora existam formas de diminuir os níveis de colesterol através de alteração no estilo de vida, em muitos casos somente a terapia medicamentosa é eficiente, sendo que esta possui efeitos colaterais significativos.

A *Campomanesia xanthocarpa* Berg. é uma planta medicinal e alimentícia, popularmente conhecida pelos nomes de guabiroba, guavirova, guabirobeira-do-mato e guabira, presente na região sul e sudeste do país, na Argentina, Paraguai e Uruguai. Esta espécie arbórea pode atingir 15 metros de altura, apresenta folhagem verde escura e os frutos apresentam-se com coloração verde amarelada; floresce entre setembro e outubro e frutifica entre novembro e dezembro, sendo que suas flores são esbranquiçadas (Lorenzi., 1992).

Os frutos são comestíveis e apresentam propriedades antioxidantes, possuindo em sua composição de vitamina C, flavonoides, saponinas, taninos, monoterpenos (Biavatti et al, 2004; Auharek et al., 2013).

<sup>1</sup> Aluna do Curso de Graduação em Biologia – Bolsista CNPq – fernandabtto@gmail.com

<sup>2</sup> Aluno de Doutorado do PPGBioSaúde – airesjoubert@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Professora orientadora – jnpicada@gmail.com

As folhas são utilizadas popularmente na forma de chás como depurativa, antidiarreica, anti-inflamatória, anti-reumática, para tratamento de cistites e uretrites, e para diminuição dos níveis de colesterol (Biavatti et al., 2004; Auharek et al., 2013).

Pesquisas experimentais com o extrato hidro alcoólico de folhas da *C. xanthocarpa* demonstraram atividade antiulcerogênica (Markman et al., 2004). Já com o extrato aquoso foi verificada ação antitricomonas (Brandelli et al., 2013), atividade antimicrobiana (Sousa-Moreira et al., 2011), atividade antiplaquetária, antitrombótica e atividade fibrinolítica com possível ação na conversão do plasminogênio em plasmina (Klafke et al., 2010) e redução de peso (Biavatti et al., 2004; Dickel et al., 2007).

Decoctos da *C. xanthocarpa* diminuíram os níveis de glicemia em ratos diabéticos (Vinagre et al., 2010). O uso do chá das folhas de *C. xanthocarpa* para reduzir os níveis de colesterol foi observado por (Klafke et al., 2010); em estudo com pacientes hipercolesterolêmicos. cápsulas das folhas da *C. xanthocarpa* reduziram os níveis de triglicerídeos e LDL (Viecili et al., 2014).

A busca de novas opções terapêuticas com menos efeitos colaterais para as doenças cardiovasculares é de fundamental importância, pois os medicamentos mais utilizados, como por exemplo as estatinas podem provocar problemas hepáticos e rabdomiólise, que pode ser fatal. A *C. xanthocarpa* é uma planta com potencial atividade antihiperlipidêmica, porém poucos estudos avaliaram seus efeitos genotóxicos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial mutagênico do extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa*, utilizando o teste *Salmonella*/microsoma (teste de Ames), em linhagens TA1535, TA97a, TA98, TA100 e TA102 de *Salmonella typhimurium*, com e sem ativação metabólica (S9mix).

## **METODOLOGIA**

O ensaio de mutagenicidade foi realizado conforme descrito por Maron e Ames (Maron and Ames, 1983). Foram utilizadas amostras contendo 100 µL das linhagens de *Salmonella typhimurium* TA98, TA97a, TA100, TA102 e TA1535 adquiridas da Universidade da Califórnia, Berkeley, CA, EUA. A atividade mutagênica foi determinada de acordo com o procedimento de pré-incubação por 20 minutos à 37 °C. Foram utilizadas cinco concentrações não citotóxicas do extrato aquoso de *C. xanthocarpa*, na presença ou ausência de S9 mix, sem agitação. Em seguida, 2 ml de agar de superfície (0,6% de ágar, 0,5% de NaCl, 50 µM de histidina, 50 µM de biotina, pH 7,4, 42 °C) foram adicionados ao tubo de ensaio e imediatamente vertida sobre uma placa contendo meio mínimo (1,5% de agar, sais de Vogel-Bonner E, 2% de glicose). A aflatoxina B1 (1 µg/placa) foi utilizada como controle positivo para todas as linhagens na presença de ativação metabólica (com S9 mix). Na ausência de ativação metabólica, os controles positivos foram óxido de 4-nitroquinolina (4-NQO, 0,5 µg/placa) para TA97a, TA98, TA102, e azida sódica (1 µg/placa) para as linhagens TA1535 e TA100. As placas foram incubadas no escuro a 37 °C durante 48 horas antes da contagem das colônias revertentes. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA e complementado pelo teste de Dunnett.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Os resultados mostraram que o extrato aquoso de *C. xanthocarpa* induziu mutações nas linhagens TA98, TA97a e TA102 na ausência de S9mix. Porém na presença de S9mix, os resultados foram negativos em todas as linhagens.

Estes resultados corroboram os de Fernandes et al. (2003) que observaram respostas indicando mutações *frameshift* induzidas por um extrato de *C. xanthocarpa* nas linhagens TA98 e TA97a na ausência de metabolização.

Tabela 1. Indução de revertente *his+* em linhagens de *S. typhimurium* tratadas com o extrato aquoso de *Campomanesia xanthocarpa* (CxAE) com e sem ativação metabólica (S9 mix)

<i>S. typhimurium</i> strains											
Substance	Concentration (µg/plate)	TA98		TA97a		TA100		TA1535		TA102	
		Rev/plate <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/plate <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/plate <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/plate <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/plate <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>
Sem ativação metabólica (-S9)											
NC <sup>c</sup>	-	18.3±2.5	-	67.7±9.7	-	90.3±11.4	-	13.7±2.1	-	383.3±30.0	-
CxAE	250	40.7±7.4**	2.22	92.7±10.7	1.37	116.7±22.5	1.29	13.0±1.7	0.95	618.0±40.3*	1.61
	500	33.0±6.1*	1.80	100.0±5.0*	1.48	109.7±24.6	1.21	15.3±3.1	1.12	821.3±158.8****	2.14
	1000	43.0±2.6****	2.35	132.0±10.4****	1.95	114.3±5.1	1.27	10.7±2.3	0.78	841.3±52.2****	2.19
	2000	37.0±7.1*	2.02	176.3±15.3****	2.60	137.0±15.7	1.52	11.0±4.6	0.80	784.0±44.5****	2.05
	5000	17.3±5.1	0.95	164.3±12.4****	2.43	146.7±28.6*	1.62	8.7±4.6	0.64	740.7±80.0****	1.93
PC <sup>d</sup>	0.5 (4NQO) 1 (NaN <sub>3</sub> )	182.3±43.6****	<b>9.96</b>	270.3±67.0***	<b>3.99</b>	1839.0±162.4***	<b>20.37</b>	1018.0±51.9****	<b>74.31</b>	1341.0±122.3****	<b>3.50</b>
Com ativação metabólica (+S9)											
NC <sup>c</sup>	-	32.0±8.9	-	50.7±2.5	-	103.0±11.8	-	9.3±3.1	-	483.7±13.8	-
CxAE	250	32.3±2.5	1.01	60.3±6.7	1.19	92.7±15.7	0.90	11.3±2.1	1.22	458.3±80.4	0.95
	500	25.0±4.6	0.78	54.0±6.6	1.07	109.0±1.7	1.06	9.7±2.3	1.04	363.3±70.5	0.75
	1000	25.3±2.3	0.79	63.3±4.9	1.25	120.7±21.4	1.17	13.7±3.1	1.47	387.0±32.1	0.80
	2000	32.7±3.2	1.02	68.0±14.5	1.34	145.3±20.5*	1.41	12.3±2.5	1.32	302.7±21.1	0.63
	5000	39.3±4.0	1.23	87.0±16.5**	1.72	142.0±12.2*	1.38	10.0±1.0	1.08	376.3±16.4	0.78
PC <sup>d</sup>	1 (AFB <sub>1</sub> )	1016.0±178.7****	<b>31.75</b>	309.3±38.2***	<b>6.10</b>	516.0±95.4****	<b>5.01</b>	123.3±23.1****	<b>13.26</b>	1339.0±39.1****	<b>2.77</b>

<sup>a</sup>Número de revertentes/placa: Média de três experimentos ± SD; <sup>b</sup>MI: Índice Mutagênico (nº. de *his+* induzidos na amostra/nº. de *his+* espontâneo no controle negativo); <sup>c</sup>NC: Controle negativo (Tampão fosfato com pH 7,4 usado como solvente para o extrato). <sup>d</sup>PC: controle positivo (-S9) azida sódica para TA100 e TA1535; 4-NQO para TA97a, TA98 e TA102; (+S9) aflatoxina B1; diferença significativa em relação ao controle negativo. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$  (ANOVA, teste de Dunnett).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso de *C. xanthocarpa* é capaz de induzir mutações por deslocamento no quadro de leitura e mutações por danos oxidativos do DNA, somente na ausência de metabolização, sugerindo a presença de substâncias com ação mutagênica direta. A biotransformação conferida pelo S9mix foi capaz de detoxificar os mutágenos presentes no extrato, o que levou a perda do potencial mutagênico do extrato na presença de S9mix.

## REFERÊNCIAS

AUHAREK, Sarah Alves et al. Reproductive toxicity of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) in female Wistar rats. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p.341-343, 2013.

BIAVATTI, M. et al. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p.385-389, 2004.

BRANDELLI, Clara Lia Costa et al. Remarkable Anti-Trichomonas vaginalis Activity of Plants Traditionally Used by the Mbyá-Guarani Indigenous Group in Brazil. **Biomed Research International**, v. 2013, p.1-7, 2013.

DICKEL, Michele Luciane; RATES, Stela Maris Kuze; RITTER, Mara Rejane. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, p.60-71, 2007.

FERNANDES, J. B. F.; VARGAS, V. M. F. Mutagenic and antimutagenic potential of the medicinal plants *M. laevigata* and *C. xanthocarpa*. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 3, p.269-273, 2003.

KLAFKE, Jonatas Zeni et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p.299-305, 2010.

LORENZI, Harri. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1992. 352 p.

MARKMAN, Blanca Elena Ortega; BACCHI, Elfriede Marianne; KATO, Edna Tomiko Myiake. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p.55-57, 2004.

SANTOS R.D., GAGLIARDI A.C.M., XAVIER H.T., MAGNONI C.D., CASSANI R., LOTTENBERG A.M.P. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol.**, v.100, p.1-40, 2013.

SOUZA-MOREIRA, Tatiana M. et al. Antidiarrheal Activity of *Campomanesia xanthocarpa* Fruit. **Journal Of Medicinal Food**, v. 14, n. 5, p.528-531, 2011.

VIECILI, Paulo Ricardo Nazário et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. **Atherosclerosis**, v. 234, n. 1, p.85-92, 2014.

VINAGRE, Anapaula Sommer et al. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 46, n. 2, p.169-177, 2010.