

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DA GRANDISINA

OLIVEIRA JÚNIOR, Luiz Marcos¹; **GUERRA**, Meirielle Teixeira²; **VIEIRA**, Marcelo de Sousa³; **VALADARES**, Marize Campos⁴

Palavras-chave: *Virola surinamensis*, grandisina, teste de micronúcleo, anti-mutagenicidade

1. INTRODUÇÃO

A *Virola surinamensis*, da família das *Myristicaceae*, é conhecida popularmente por ucuúba branca ou ucuúba de igapó. São comumente encontradas nas matas alagáveis da Região amazônica (RODRIGUES, 1980). A espécie botânica *Virola surinamensis* possui fitoconstituintes como as neolignanas virolina, surinamensina, veraguensina e grandisina. A neolignana grandisina é encontrada predominantemente em arbustos e se acumulam em madeiras como resposta a ferimentos mecânicos ou ao ataque de microrganismos e exibe propriedades contra insetos, como o efeito antialimentar induzido pela piperona, isolada de *Piper futokadsura Siebold* (Piperaceae), (SIMÕES et al., 2004). O uso extensivo de lignanas na medicina tradicional, fez desta classe de Produtos Naturais um importante alvo para estudo do desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (GORDALIZA et al., 2004; SALEEM et al., 2005). Podemos citar algumas atividades biológicas detectadas para algumas neolignanas: como o efeito antitumoral, antifúngico e antioxidante do ácido nordi-hidroguaiarético, extraído de *Larrea cuneifolia*; o efeito antiinflamatório da magnoshinina, extraída da *Magnolia salicifolia*; e o efeito cercaricida da surinamesina, extraída da *Virola surinamensis* (BARBOSA FILHO, 2004). Em relação à atividade antitumoral *in vitro*, o composto elenosídeo demonstrou importante ação contra tumores pré-clínicos padrões (NAVARRO et al., 2001). Porém, substâncias lignânicas, anteriormente estudadas, demonstraram alto poder de dano ao DNA. Um dos modelos para a avaliação de dano ao DNA é o Teste de Micronúcleo, que é o ensaio *in vivo* mais amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos e aneugênicos (MacGREGOR et al., 1987), assim pode ser empregado para a avaliação do potencial mutagênico de agentes físicos, químicos e biológicos em células de vários órgãos. Os resultados positivos obtidos com Teste de Micronúcleo fornecem fortes evidências de genotoxicidade sistêmica da substância química avaliada. Sob condições experimentais apropriadas (isto é, quando ocorre exposição da medula óssea), os resultados negativos suportam a conclusão de que a substância teste não é genotóxica *in vivo*.

2. METODOLOGIA

A grandisina foi gentilmente fornecida pelo Prof. Massuo Jorge Kato (Instituto de Química, Universidade de São Paulo). Para investigar o potencial mutagênico da grandisina foram administradas concentrações de 2, 4, 8, 20, 50 ou 100mg/Kg/dia da neolignana grandisina em 6 grupos de animais, em uma única dose. Após ambientalização os animais foram divididos em 8 grupos: Controle Positivo; Controle Negativo; Grupo 1 (2mg/kg/dia; n=6); Grupo 2 (4mg/kg/dia; n=6); Grupo 3

(8mg/kg/dia; n=6), Grupo 4 (20mg/kg/dia; n=3); Grupo 5 (50mg/kg/dia; n=3) e Grupo 6 (100mg/kg/dia; n=3). O grupo controle positivo recebeu uma dose de 0,2 ml de Ciclofosfamida (200mg/Kg/dia) por via oral. Os grupos controles negativos: a solução administrada a esse grupo continha dimetilsulfóxido (DMSO), Tween 80 e água ultrapura na proporção dos grupos expostos a droga. Os animais desse grupo receberam uma dose de 0,2 ml da citada solução via oral. Depois de um período de 24 horas da administração da droga ou solvente os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, então, colhida a medula óssea do fêmur. Para a avaliação da anti-mutagenicidade os animais foram divididos em 5 grupos, com 5 animais em cada grupo: Controle Positivo; Controle Negativo; Grupo 1; Grupo 2; e Grupo 3. Para o grupo denominado controle positivo, os 5 animais receberam por sete dias consecutivos uma solução do solvente da droga. Os 5 animais desse grupo receberam uma dose de 0,2 ml da solução via oral. No sétimo estes animais foram expostos a 0,2 ml de Ciclofosfamida (200mg/Kg/dia) por via oral. O grupo controle negativo: recebeu o solvente da droga. Estes animais receberam uma dose de 0,2 ml da solução via oral pelos sete dias consecutivos do tratamento. Já os grupos expostos à grandisina receberam por sete dias consecutivos diferentes concentrações (2, 4 ou 8mg/kg/dia) da droga administradas por via oral (n=5). No sétimo dia foi administrada uma solução de 0,2 ml de Ciclofosfamida (200mg/Kg/dia) por via oral, para a indução do dano cromossômico. 24 horas após a exposição a ciclofosfamida, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, então, colhida a medula óssea do fêmur. Após o sacrifício de cada animal, a medula óssea dos dois fêmures foi coletada. A obtenção e preparo das lâminas de eritrócitos de medula óssea para avaliação da frequência de micronúcleo (MN) seguiram a metodologia proposta por MacGregor *et al.*(1987). Foram feitas 3 lâminas para cada animal. Foram analisadas 1000 células por lâmina, em microscópio de luz, com aumento de 1000 vezes imersão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do potencial mutagênico da grandisina, como esperado, o grupo controle positivo apresentou significativa variação na frequência de micronúcleos (9,2 micronúcleos por 1000 células contadas) quando comparada com o grupo controle (5,3 micronúcleos por 1000 células contadas) ($P < 0.05$, ANOVA; Teste de Tukey). Em contrapartida, não foi observada diferença nos camundongos expostos à grandisina (2, 4 ou 8mg/Kg) quando comparados com o grupo controle. Nestes animais, a avaliação de micronúcleo foi similar àquela feita no grupo controle, 6,5; 4,3 e 4,9 por 1000 células contadas, respectivamente. Quanto ao estudo da atividade quimioprotetora da grandisina, da mesma forma que no estudo anterior, os dados aqui apresentados corroboram com a literatura demonstrando o potencial genotóxico da ciclofosfamida. Já os animais que foram profilaticamente tratados por 7 dias com as diferentes concentrações da grandisina (2, 4 ou 8mg/kg/dia), apresentaram uma redução da frequência de micronúcleos, quando comparados ao grupo da ciclofosfamida. A frequência de micronúcleos neste grupo foi similar àquela encontrada nos animais controle. Quando estes animais expostos a grandisina foram comparados ao grupo controle nenhuma diferença estatística foi detectada. Nos animais tratados profilaticamente por 7 dias com a grandisina observamos reduções da frequência de micronúcleos, induzidas pela ciclofosfamida, de 64,7%, 85,29%, 97,05%, para as doses de 2, 4, e 8mg/kg, respectivamente. A porcentagem de redução do teste de anti-mutagenicidade foi calculada obedecendo a fórmula proposta por Azevedo *et al.* (2003). Estes dados sugerem que, nas condições experimentais aqui relatadas, o tratamento profilático com a grandisina preveniu a

indução da fragmentação cromossômica. Desta forma, podemos sugerir que esta droga possui, de forma dose-dependente, uma atividade quimioprotetora. Estes achados podem estar relacionados com um possível potencial antioxidante desta substância. Trabalhos na literatura demonstraram que substâncias quimioprotetoras apresentam elevado poder antioxidante.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho concluímos que a grandisina apresentou potencial genotóxico nas doses mais elevadas estudadas. Por outro lado, nas menores doses do estudo (2-8mg/kg) observamos que esta molécula preveniu a fragmentação cromossômica, induzida pela ciclofosfamida, apresentando um potencial quimioprotetor dose-dependente. Estes resultados abrem novas perspectivas de aplicações terapêuticas da grandisina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, L.; GOMES, J. C.; STRINGHETA, P. C.; GONTIJO, A. M. M. C.; PADOVANI, C. R.; RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F. Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice. Faculdade de Medicina de Itajubá, Itajubá, Brasil, 2003.

BARBOSA FILHO, J. M. *Lignanas, neolignanas e seus análogos*. In: Oliveira Simões, Cláudia Maria et. al.. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5ª ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004. 1102p. 557-575, 2004.

GORDALIZA, M.; GARCIA, P. A.; DEL CORRAL, J. M.; CASTRO, M. A.; GOMEZ-ZURITA, M. A. *Toxicon*. v. 15, p. 441-459, 2004.

MacGREGOR, J. T.; HEDDLE, J. A.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. F.; TIA, R. R.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleus assay in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Research*. v.189, p.103-12, 1987.

NAVARRO, E.; ALONSO, S. J.; ALONSO, P. J.; TRUJILLO, J.; JORGE, E.; PEREZ, C. *Biology & Pharmaceutical Bulletin*. v. 24, p. 254-258, 2001.

RODRIGUES, W. A.; *Acta Amazônica*. v.10, p. 1-127, 1980.

SALEEM, M.; KIM, H. J.; ALI, M. S.; LEE, Y. S. *Natural Product Reports*. v. 22, p. 696-716, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5ed- Porto Alegre, Editora da UFRS, 2004.

FONTE DE FINANCIAMENTO: CNPq

1. Bolsa de Iniciação Científica. Faculdade de Farmácia UFG
luizdemolay@hotmail.com

2. Aluna de Iniciação Científica. FF/UFG.

3. Mestrando em Ciências da Saúde-UFG

4. Orientadora. FF/UFG. marizecv@farmacia.ufg.br