



Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados

Régis T. Sturbelle,¹ Daiane S. de Pinho,² Rossana G. Restani,² Gisele R. de Oliveira,² Gilberto de L. Garcias,^{2,3} Maria da Graça Martino-Roth^{*,2}

¹Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Caixa Postal 354, 9610-900 Pelotas-RS, Brasil,

²Laboratório de Genética, Escola de Saúde, Universidade Católica de Pelotas, Rua Félix da Cunha, 412, Centro, 96010-000 Pelotas-RS, Brasil,

³Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Caixa Postal 354, 96010-900 Pelotas-RS, Brasil.

RESUMO: Algumas das substâncias presentes nos vegetais podem ter efeitos mutagênicos, enquanto outras podem atenuar ou anular estes efeitos. Estima-se que mais de 200 substâncias ativas façam parte do gel de *Aloe vera*, sendo que os polissacarídeos chegam a 30%, e muitos dos benefícios terapêuticos, nutricionais e cosméticos são a eles atribuídos. O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito mutagênico e antimutagênico da solução de *Aloe vera*, em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados. Para as soluções, as folhas de *Aloe vera* foram trituradas, filtradas e esterilizadas. O teste de *Allium cepa* foi constituído de oito tratamentos e o de linfócitos, de cinco (com quatro repetições). Observou-se que na dose usual, a solução de *Aloe vera* não foi mutagênica para o sistema de teste vegetal e nem para o humano. Já na dose dez vezes mais concentrada provocou um efeito citotóxico e mutagênico em *Allium cepa*. Em células vegetais a solução foi antimutagênica apenas quando colocada depois do paracetamol, enquanto que nas células humanas, essa ação se manifestou quando a solução foi utilizada ao mesmo tempo com o paracetamol.

Unitermos: *Aloe vera*, *Allium cepa*, Liliaceae, mutagenicidade, antimutagenicidade.

ABSTRACT: "Evaluation mutagenic and antimutagenic activity of *Aloe vera* in *Allium cepa* test and micronucleus test in human binucleated lymphocytes." Some of the substances in plant may have mutagenic effects, while others may cancel or mitigate these effects. It is estimated that more than 200 active substances compose the gel of *Aloe vera*, and the polysaccharides increases in 30%, and many of the therapeutic benefits, nutrition and cosmetics are allocated to them. The objective of this study was to determine the mutagenic and antimutagenic effects of the *Aloe vera* solution in *Allium cepa* test and the micronuclei test in human binucleated lymphocytes. For solutions, the leaves of *Aloe vera* were crushed, filtered and sterilized. The *Allium cepa* test was composed of eight treatments, and the lymphocytes of five (with four repetitions). It was observed that at the usual dose, the solution of *Aloe vera* was not mutagenic for the plant test system and not for humans. At a dose ten times more concentrated caused a cytotoxic and mutagenic effect in *Allium cepa*. In plant cells the solution was antimutagenic only when placed after paracetamol, while in human cells, this action was manifested when the solution was used at the same time with paracetamol.

Keywords: *Aloe vera*, *Allium cepa*, Liliaceae, mutagenicity, antimutagenicity.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo, quanto à espécie humana. Em muitas comunidades e grupos étnicos, o conhecimento sobre plantas medicinais simboliza geralmente, o único recurso

terapêutico (Sartori, 2005). Atualmente, nas regiões mais pobres do País e nas grandes cidades, plantas medicinais são utilizadas e comercializadas em feiras livres, mercados populares e cultivadas em quintais residenciais (Bertini et al., 2005). Uma planta é classificada como medicinal por possuir substâncias que têm ação farmacológica. Estas

* E-mail: martino@phoenix.ucpel.tche.br; Tel. +55-53-32282533.

substâncias são denominadas de princípios ativos e, na maioria das vezes, não se sabe quais destes realmente estão atuando (Furlam, 1998).

O eficiente poder de acelerar a regeneração de células da pele, cientificamente comprovado, faz da *Aloe vera* (em especial da parte interna da folha, o gel) o principal ingrediente da indústria cosmética, além de ser também consumida como complemento alimentar no combate a doenças e infecções (Gowda, 1979).

Muitos estudos laboratoriais têm identificado um grande número de compostos antimutagênicos e anticarcinogênicos, a maioria presente nas plantas (De Marini, 1998). Atualmente, há uma tendência geral, no campo das investigações farmacológicas, de investigar o efeito genotóxico, carcinogênico, embriotóxico e ou teratogênico das plantas medicinais (Sánchez-Lamar, 1999). Essa avaliação do potencial mutagênico se faz necessária para incrementar a segurança do uso feito pela população das plantas medicinais.

Segundo Davis, (1998) o gel de *Aloe vera* tem sido utilizado como um componente fundamental de cosméticos e produtos de cuidado pessoal por todo mundo durante vários anos. A atividade biológica deste material deve-se aos carboidratos (polissacarídeos), fração que esta composta por aproximadamente 20% dos sólidos totais nas folhas da *Aloe vera*. Além disso, existem vinte proteínas de distintas classes, associadas com o polissacarídeo, contribuem para sua atividade farmacológica na estimulação e proliferação celular e outras possíveis atividades tais como, antiinflamatória, antiviral, antineoplásicas e externamente pode ser usada para cicatrizar feridas

Este trabalho teve como objetivo determinar o nível de mutagenicidade e antimutagenicidade da *Aloe vera*, *in vivo* através do teste de *Allium cepa* e *in vitro*, através do teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados cultivados. Investigar as anomalias do ciclo mitótico, as anomalias interfásicas e determinar o índice mitótico das células meristemáticas de *Allium cepa* submetidas a soluções de *Aloe vera*, e paracetamol. Investigar a frequência de micronúcleos; pontes nucleoplasmáticas, brotos nucleares, e verificar o índice mitótico em linfócitos binucleados humanos cultivados, submetidos à *Aloe vera* e paracetamol. Intervir se for o caso, no sentido de orientar sobre o uso dessa planta medicinal.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Genética da Universidade Católica de Pelotas, através de dois testes; o primeiro *in vivo* (Teste de *Allium cepa*) e o segundo *in vitro* (Teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados).

Teste de *Allium cepa*

A *Aloe vera* foi obtida no Horto Municipal de Pelotas e identificada pela Dr^a Maria Antonieta Décio da Costa, professora do Laboratório de Botânica da Universidade Católica de Pelotas. As folhas frescas foram trituradas e após foram realizadas duas soluções em diferentes concentrações de *Aloe vera* com água mineral. A primeira solução foi baseada em uma dose usual, obtida na literatura, de 40 mL/L, e a segunda, dez vezes mais concentrada, de 400 mL/L. Além das soluções testes da *Aloe vera*, foi realizado um controle negativo com água mineral e um controle positivo com paracetamol a 800 mg/L, que foram utilizadas diretamente nos experimentos com ponta de raiz de *Allium cepa*.

Para o teste de ponta de raiz de *Allium cepa*, foram utilizados bulbos de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinadas e saudáveis. Os bulbos de cebola foram colocados em frascos com água, a temperatura ambiente, para enraizar. Quando as raízes atingiram com 0,5 cm foram colocadas nas soluções de tratamento.

Para verificar a atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* L, foram realizados oito tratamentos com quatro repetições cada: T1 - controle negativo, onde as raízes dos bulbos foram submersas em água; T2 - 40 mL/L, durante 24 h; T3 - 400 mL/L, durante 24 h; T4 - paracetamol a 800 mg/L, durante 24 h; T5 - 40 mL/L e paracetamol a 800 mg/L durante 24 h; T6 - 400 mL/L e paracetamol a 800 mg/L, durante 24 h; T7 - paracetamol a 800 mg/L, durante 24 h e, posteriormente *Aloe vera* a 40 mL/L, por mais 24 h; T8 - paracetamol a 800 mg/L, durante 24 h e posteriormente *Aloe vera* a 400 mL/L, por mais 24 h.

Após este período as pontas de raiz (meristemas) foram removidas e fixadas em carnoy (3:1, etanol: ácido acético). Para a análise microscópica, foram coradas com orceína acética a 2%. As lâminas foram avaliadas, usando microscópio óptico com 1000 vezes de aumento. Foram avaliadas 1000 células por repetição, totalizando 4.000 células por tratamento. Foi avaliado o índice mitótico (IM), as anomalias do ciclo mitótico (ACM), como cromossomos perdidos e pontes anafásicas, as anomalias interfásicas (AI), como células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos nucleares e o total de anomalias (TA).

Teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados

Neste teste foram realizados cinco tratamentos com quatro repetições (pessoas): T1 - controle negativo; T2 - 0,1 mL da solução de *Aloe vera* a 40 mL/L, adicionado à cultura; T3 - 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L, adicionado à cultura; T4 - 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L de e 0,1 ml da solução *Aloe vera* a 40 mL/L, adicionado à cultura; T5 - 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L, adicionado à cultura e

posteriormente após lavagem, centrifugação e substituição do meio de cultura, foi adicionado 0,1 mL da solução de babosa a 40 mL/L, a cultura.

Para preparar as culturas do teste *in vitro*, foram usados linfócitos humanos de sangue periférico, de dois homens e duas mulheres com aproximadamente vinte anos de idade, de ambos os sexos, saudáveis, aparentemente sem infecções, que não fizeram nenhum tratamento nos últimos seis meses. Foram coletados de cada pessoa, 5 mL de sangue periférico, em seringa descartável heparinizada. Em cada frasco de cultura contendo 4 mL de meio RPMI 1640, 10% de soro fetal bovino, 1% de fitohemaglutinina A, adicionou-se 0,5 mL de sangue e incubou-se a 37 °C em estufa, por 72 h. As soluções testes foram adicionadas à cultura, ao completar 20 h.

Nas 44 h de cultivo, adicionou-se 3 µg de citocalasin B/ mL da cultura, em T1, T2, T3, e T4 e *Aloe vera* em T5. As 48 h adicionou-se 3 µg de citocalasin B/ mL da cultura, em T5, e conservou-se na estufa por mais 28 h. No final das 72 h, transferiram-se as culturas para os tubos de centrifuga e realizou-se a colheita. As lâminas foram preparadas e analisadas de acordo com Fenech, 1997.

Análise estatística

Para a análise estatística de ambos os testes, foi elaborado um banco de dados no programa estatístico SPSS, versão 10.0 “for Windows” e analisado pelo teste de Mann-Witney U, com um nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Esse trabalho procurou avaliar a mutagenicidade e antimutagenicidade da *Aloe vera*, *in vivo* através do teste de *Allium cepa* e *in vitro*, através do teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados.

Teste de *Allium cepa*

Na Tabela 1 constam os dados obtidos com os oito tratamentos realizados: o número médio de células em divisão (CD), o índice mitótico (IM), o número médio de anomalias do ciclo mitótico (ACM), o número médio de anomalias interfásicas (AI) e o número médio do total de anomalias (TA). Dentre as ACM, as alterações mais observadas foram as pontes anafásicas e os cromossomos perdidos, e entre as AI, foram as células com micronúcleos e com brotos nucleares (Figura 1). Todos os tratamentos foram comparados com o controle negativo, e os valores de p encontram-se na tabela.

Tabela 1. Análise descritiva das alterações observadas nos oito tratamentos com babosa (*Aloe vera* L), realizados no teste de *Allium cepa*.

Tratamento	CD Média/DP	IM	ACM Média/DP	AI Média/DP	TA Média/DP
T1	118,50±56,20	11,85	0	2,50±3,10	2,50±3,10
T2	48,75±31,02 $p = 0,083$	4,87	0,75±0,96 $p = 0,131$	5,25±5,56 $p = 0,468$	6,00±4,83 $p = 0,191$
T3	17,50±8,18 $p = 0,021$	1,75	0,25±0,50 $p = 0,317$	5,25±6,55 $p = 0,381$	5,50±6,35 $p = 0,237$
T4	5,50±8,54 $p = 0,020$	0,55	0 $p = 1,00$	11,00±2,00 $p = 0,018$	11,00±2,00 $p = 0,018$
T5	82,25±46,50 $p = 0,386$	8,22	2,25±1,70 $p = 0,047$	9,75±4,19 $p = 0,043$	12,00±4,08 $p = 0,043$
T6	3,50±2,64 $p = 0,021$	0,35	1,75±3,50 $p = 0,317$	8,00±4,24 $p = 0,083$	9,75±3,40 $p = 0,043$
T7	4,75±3,30 $p = 0,020$	0,47	0,50±1,00 $p = 0,317$	6,50±3,69 $p = 0,083$	7,00±4,08 $p = 0,083$
T8	4,50±4,04 $p = 0,021$	0,45	0 $p = 1,00$	5,75±4,29 $p = 0,189$	5,75±4,92 $p = 0,189$

DP: Desvio Padrão; CD: Células em divisão; IM: Índice Mitótico; ACM: Anomalias do Ciclo Mitótico; AI: Anomalias Interfásicas; TA: Total de anomalias; T1: Controle negativo; T2: babosa a 40 mL/L de H₂O, durante 24 h; T3: babosa a 400 mL/L de H₂O, durante 24 h; T4: controle positivo com paracetamol a 800 mg/L de H₂O, durante 24 h; T5: babosa a 40 mL/L de H₂O e paracetamol a 800 mg/L de água, durante 24 h; T6: babosa a 400 mL/L de H₂O e paracetamol a 800 mg/L de água, durante 24 h; T7: paracetamol a 800 mg/L de H₂O, durante 24 h e, posteriormente babosa a 40 mL/L de H₂O por mais 24 h; T8: paracetamol a 800 mg/L de H₂O durante 24 h e posteriormente babosa a 400 mL/L de H₂O por mais 24 h.

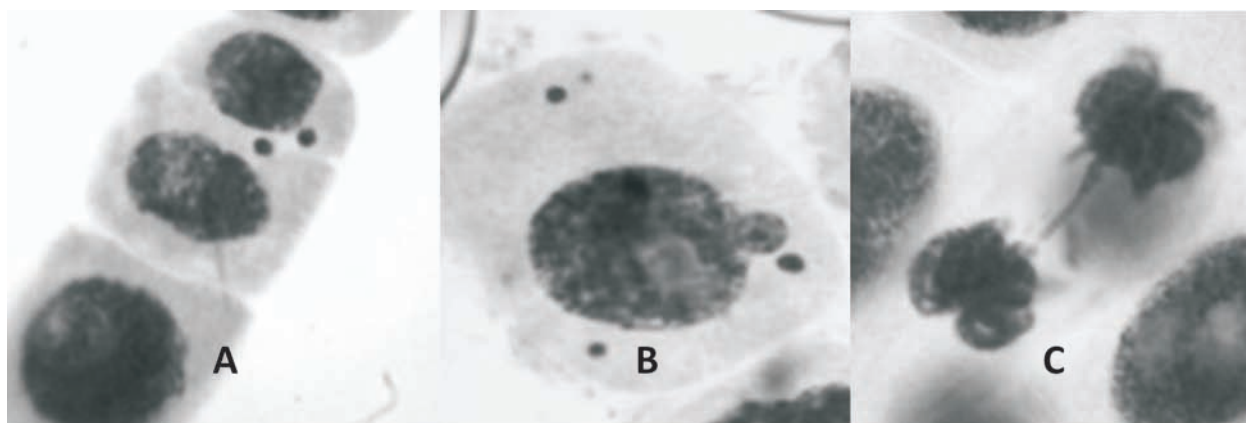


Figura 1. Células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas com *Aloe vera*. A: células com micronúcleos; B: Célula com broto e micronúcleos; C: célula com ponte anafásica.

Entre T1 (controle negativo) e T4 (controle positivo), no qual foi utilizado uma dosagem de paracetamol a 800 mg/L, observou-se uma diferença significativa em relação a CD ($p = 0,020$), AI ($p = 0,018$) e TA ($p = 0,018$). Isto demonstra que o paracetamol apresenta um efeito mutagênico, causando AI e TA e diminuindo significativamente o número de células em divisão. Em consequência ao baixo índice mitótico causado pelo paracetamol, não se observou o aparecimento de AM.

A dose menos concentrada de *Aloe vera* (T2) não diferiu do controle negativo, mas a dose dez vezes maior (T3) causou alterações significativas em CD, e AI. Verifica-se, então, que *Aloe vera* numa dose concentrada tem um efeito danoso nas células de *Allium cepa*, enquanto que numa dose menor, não causa alterações nem diminui o índice mitótico, apresentando um efeito semelhante ao controle negativo, não tendo uma ação mutagênica, nem citotóxica.

Quanto à análise comparativa de T1 e T5, onde foi adicionado paracetamol a 800 mg/L e *Aloe vera* a 40 mL/L, simultaneamente, verifica-se que não houve diferenças significativas em CD ($p = 0,386$). Isso demonstra que a *Aloe vera* na dose de 40 mL/L, adicionada junto ao paracetamol, inibe a sua ação citotóxica, pois o índice mitótico apresentou-se de forma semelhante ao controle negativo. Porém em relação a ACM ($p = 0,047$), AI (0,043) e TA ($p = 0,043$) houve diferenças significativas, sugerindo que embora a *Aloe vera* na dose usual tenha inibido a ação do paracetamol em relação a CD, esse fato também causou um aumento de AI, ACM e TA, tendo em vista que o paracetamol apresenta um efeito mutagênico. Portanto, na dose menos concentrada a *Aloe vera*, quando acrescentada junto com o paracetamol, não apresentou um efeito antimutagênico.

A comparação entre T1 e T6, onde o paracetamol foi adicionado simultaneamente a dosagem de *Aloe vera* a 400 mL/L (dez vezes mais concentrada), verifica que os tratamentos diferiram significativamente em relação a CD ($p = 0,021$) e TA ($p = 0,043$), não diferindo em relação a AM ($p = 0,317$) e AI ($p = 0,083$), evidenciando que nessa

dose mais concentrada, além de diminuir drasticamente o IM, a *Aloe vera* não atuou de forma positiva nas células de *Allium cepa*, em relação ao paracetamol. Pode-se observar que embora a *Aloe vera* (400 mL/L), ao contrario da dose usual (40 mL/L) não causou benefícios e nem inibiu a ação do paracetamol.

Entre T1 e T7, onde a *Aloe vera* na dose de 40 mL/L, foi adicionada 24 h após o paracetamol a 800 mg/L, observou-se que houveram diferenças significativas apenas em relação a CD ($p = 0,020$), evidenciando um efeito antimutagênico, tendo em vista que este tratamento foi submetido antes ao efeito do paracetamol, apresentando um comportamento semelhante ao controle negativo. Nesse tratamento fica evidenciada uma ação antimutagênica de *Aloe vera*.

Já em relação a T1 e T8, onde a dose de *Aloe vera* de 400 mL/L foi adicionada 24 h após o tratamento com paracetamol, foi observado um efeito semelhante a T7, evidenciando, portanto, que a dosagem de 400 mL/L atuou inibindo os efeitos do paracetamol, embora não o tenha feito em relação a CD.

Teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados

Na Tabela 2 constam os dados obtidos dos cinco tratamentos realizados: o índice mitótico em linfócitos binucleados (IDN), o número médio de células binucleadas com micronúcleos (TCBMN), o número médio de células binucleadas com outras anomalias (TCBOA) (pontes nucleoplasmáticas, brotos nucleares), a média do total de células binucleadas com anomalias (TCBA). As alterações mais frequentemente observadas nos linfócitos humanos binucleados foram os micronúcleos e as pontes nucleoplasmáticas (Figura 2). Todos os tratamentos foram comparados com o controle negativo, e os valores de pencontram-se na tabela.

Tabela 2. Análise descritiva das alterações observadas nos cinco tratamentos realizados no teste de micronúcleos em linfócitos humanos binucleados submetidos a diferentes tratamentos de babosa (*Aloe vera* L).

Tratamento	IDN	TCBMN Média/DP	TCBOA Média/DP	TCBA Média/DP	TCC
T1	2,00	8,25±1,50	17,75±3,59	26,00±3,16	4499
T2	1,96	16,25±8,22 <i>p</i> = 0,078	22,00±8,28 <i>p</i> = 0,468	38,25±12,55 <i>p</i> = 0,248	4536
T3	1,75	20,25±4,57 <i>p</i> = 0,020	19,50±17,93 <i>p</i> = 0,773	39,75±17,50 <i>p</i> = 0,191	4397
T4	1,78	5,75±0,95 <i>p</i> = 0,037	10,50±7,04 <i>P</i> = 0,149	16,25±7,36 <i>p</i> = 0,110	4448
T5	1,72	18 <i>p</i> = 0,245	81,0±61,42 <i>p</i> = 0,021	95,5±54,39 <i>p</i> = 0,021	4562

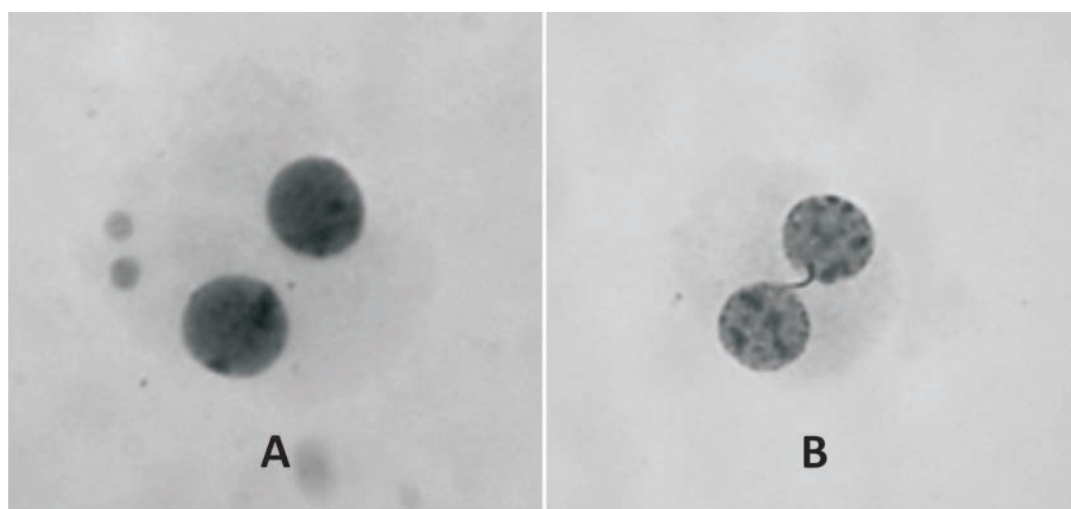
DP: Desvio padrão; IDN: Índice de divisão nuclear; TCBMN: Total de células binucleadas com micronúcleos; TCBOA: Total de células binucleadas com outras anomalias (núcleos ligados, pontes nucleoplasmáticas e brotos); TCBA: Total de células binucleadas com anomalias; T1: controle negativo; T2: 0,1 mL da solução de *Aloe vera* a 40 mL/L, adicionado à cultura; T3: 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L, adicionado à cultura; T4: 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L de e 0,1 ml da solução *Aloe vera* a 40 mL/L, adicionado à cultura; T5: 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L, adicionado à cultura e posteriormente após lavagem, centrifugação e substituição do meio de cultura, foi adicionado 0,1 mL da solução de babosa a 40 mL/L, a cultura.

A comparação entre T2 (0,1 mL da solução de babosa a 40 mL/L) e T1 (controle negativo) não detectou diferenças significativas em relação à TCBMN, TCBOA e TCBA, evidenciando que a *Aloe vera* não apresenta um efeito mutagênico, nessa concentração, em células humanas, da mesma forma que em *Allium cepa*. Esse fato é confirmado pela comparação entre T2 e T3 (controle

positivo: 0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L), que detecta uma diferença significativa em relação à TCBMN.

T4 (0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L e 0,1 mL da solução babosa a 40 mL/L, juntos) diferiu significativamente de T1, diminuindo o CBMN, e demonstrando que a *Aloe vera* apresenta um efeito antimutagênico em células humanas, quando adicionada junto ao paracetamol. Isso é confirmado pela comparação entre T4 e T3 (controle positivo), onde a diminuição é ainda mais drástica, evidenciando que a *Aloe vera* quando adicionada junto ao paracetamol inibe a sua ação, em células humanas.

Entre T5 (0,1 mL da solução de paracetamol a 800 mg/L e posteriormente após lavagem, centrifugação e substituição do meio de cultura, foi adicionado 0,1 mL da solução de babosa a 40 mL/L) e T1 (controle negativo), não se observou diferenças significativas em relação a TCBMN, porém houve um aumento significativo de TCBOA (*p* = 0,021) e TACB (*p* = 0,021), demonstrando que embora a *Aloe vera* quando adicionada 24 h após o paracetamol, iniba o seu efeito em relação a TCBMN, aumenta o número de TCBOA e TCBA, evidenciando um efeito sinérgico com o paracetamol. O número elevado de TCBOA e TCBA pode ser explicado devido ao fato do paracetamol ter ocasionado um aumento de lesões que vieram a se manifestar somente no próximo ciclo de divisão celular e por isso a *Aloe vera* não agiu de forma positiva neste tratamento. Na comparação entre T5 e T3 (controle positivo), não detectou diferenças significativas em relação a TCBMN, no entanto houve aumento em TCBOA (*p* = 0,021) e TCBA (*p* = 0,021). T5, portanto, se assemelhou ao controle positivo quanto a TCBMN e foi superior quanto a TCBOA e TCBA, demonstrando como na comparação entre T5 e T1 que *Aloe vera* quando adicionada após o paracetamol, atua sinérgicamente.

**Figura 2.** Células de linfócito humanos binucleados tratadas com *Aloe vera*. A: célula com micronúcleos; B: célula com ponte nucleoplasmática.

DISCUSSÃO

Os estudos toxigenéticos ocupam um lugar imprescindível na análise de fitofármacos com atividade terapêutica, tendo em vista que se encarregam de investigar a provável indução de danos genéticos, como consequência dos quais podem, ocasionar enfermidades, tais como, desenvolvimento de processos tumorais e malformações congênitas (Ames, 1983).

Muitos compostos antimutagênicos encontrados nos alimentos são agentes antioxidantes e atuam seqüestrando os radicais livres de oxigênio, quando administrados como pré-tratamento ou nos tratamentos simultâneos com o agente que induz as mutações no DNA. Dietas ricas em frutas e hortaliças parecem estar ligadas a baixas taxas de incidência de câncer, pois os vegetais contêm componentes fenólicos, flavonóides, isoflavonas, terpenos, glicosinolatos, minerais e outros compostos que teriam função antioxidante e anticarcinogênica (Drewnowski et al., 2000; Berrino et al., 2003).

De acordo com Ribeiro et al. (2003) o efeito mutagênico é a consequência de danos genéticos causados por agentes físicos, químicos e biológicos, induzido por mutações nas células de um organismo. Já o efeito antimutagênico, tem ação inversa impedindo a formação das mutações causadas por um determinado agente mutagênico.

Neste estudo o efeito da solução de *Aloe vera* foi avaliado em dois sistemas de testes, um em planta e o outro, humano, considerando que uma substância pode produzir resultados diferentes em diferentes sistemas-teste, embora, alguns resultados positivos tenham sido semelhantes nos dois sistemas. As soluções foram preparadas da mesma forma e de acordo com a dosagem usada pela população e, ainda, numa concentração dez vezes maior, para avaliar se essa alta dosagem pode ter efeito tóxico ou mutagênico.

Observou-se que na dose usual, a solução de *Aloe vera* não foi mutagênica para o sistema vegetal e nem para o sistema humano de teste. Já na dose dez vezes mais concentrada provocou um efeito citotóxico e mutagênico em *Allium cepa* e, portanto, essa concentração não foi utilizada em células humanas.

Em células vegetais a solução foi antimutagênica apenas quando colocada depois do paracetamol, enquanto que nas células humanas, essa ação se manifestou quando a solução foi utilizada ao mesmo tempo com o paracetamol.

Foram encontrados vários estudos abrangendo a *Aloe vera* quanto a sua provável ação mutagênica, mas nenhum trabalho com células meristemáticas. Embora não sendo realizado em células vegetais, os resultados de Vizoso et al. (2000) demonstram que o gel de *Aloe vera* não apresentou ação genotóxica em ensaio in vitro de segregação mitótica na cepa *Aspergillus nidulans* D-30 e no ensaio in vivo de indução de micronúcleos em medula óssea de ratos, não foi observado um aumento

significativo na frequência de micronúcleos nos eritrócitos policromáticos. O mesmo fato foi detectado na análise mutagênica de um extrato aquoso liofilizado de folhas de *Aloe vera* em teste de indução de mutações pontuais no locus methG1 de *Aspergillus nidulans*, segregação mitótica de *Aspergillus nidulans* e teste de micronúcleos em medula óssea de ratos, não sendo detectado efeito citotóxico ou mutagênico em nenhum dos testes (Ramos et al., 1996).

Entre os principais componentes químicos das folhas de *Aloe vera* se encontram derivados da 1,8 dihidroxiantraquinona. Estes são encontrados em sua forma livre (aloe-emodina, ácido crisofâmico) e como C-glucosídeos e ramnosídeos, entre os quais se destacam a barbalóina e isobarbalóina e os aloinosídeos A e B, que originam aloe-emodina-antrona como aglicona ao hidrolizar-se (González-Quevedo, 1990). Sabe-se que tanto o antraceno como a antraquinona são mutagênicos no teste de Ames (Mortelmans, 1986). O antraceno teve um resultado positivo na cepa de *Salmonella typhimurium* TA 100, com ativação metabólica exógena (S9) e a antraquinona nas cepas TA 98 e TA 100, com e sem S9. Não obstante, um derivado trihidroxilado do antraceno (1,8,9 trihidroxiantraceno) estruturalmente cercano, a aloe-emodina-antrona (1,8 dihidroxi 3 hidroximetil 9(10 H) antraceno) teve um resultado negativo em quatro cepas padrão (Zeiger et al., 1992)

A *Aloe vera* tem sido avaliada quanto a sua ação antimutagênica, devido ao grande número de situações em que ela é utilizada popularmente como anticancerígena. Kim et al. (1999) testou o extrato dessa planta em células de fígado de ratos contra a ação do benzopireno que é um aduto de DNA. Seus resultados sugerem que algumas plantas, como a *Aloe vera* tem um efeito antígeno-tóxico e antitumorígeno in vitro e, portanto podem ser considerados como agentes potenciais de quimioprevenção do câncer. Wang et al. (2004) detectaram um efeito radio protetor da *Aloe vera*, em cultivo de células de pele humanas irradiadas e em camundongos, aumentando a sobrevivência de 10% para 86%. Em células humanas a *Aloe vera* foi testada por Esmat et al. (2006) em cultivo celular de células humanas de câncer de mama. Eles demonstraram que essa planta reduziu as células mitóticas através da apoptose.

Os resultados deste estudo, do qual não foi encontrado similar, detectou-se que em células humanas cultivadas a *Aloe vera* não foi mutagênica e quando adicionada na cultura, junto com o paracetamol ela teve um efeito antimutagênico, diminuindo as alterações causadas pela droga. Mas quando adicionada 24 h após o paracetamol, a *Aloe vera* diminuiu os micronúcleos, porém aumentou outras alterações nucleares. Portanto sua ação antimutagênica depende da forma de administração em células humanas.

Verifica-se nesse experimento que tanto em células vegetais quanto em células humanas a *Aloe vera* não apresentou efeito mutagênico na dose usual, porém, na dose de 400 mL/L (dez vezes maior) apresentou efeito

citotóxico. No entanto, quanto ao papel de antimutagênica, houve discordância nos resultados. Enquanto que nas células de *Allium cepa*, a *Aloe vera* inibiu as mutações quando colocada 24 h após o paracetamol, nas células humanas cultivadas ela somente apresentou antimutagenicidade quando adicionada junto ao paracetamol.

Dessa forma, os dois ensaios demonstraram sensibilidade e concordam quanto a não mutagenicidade da *Aloe vera* na dose usual testada, indicando uma possível utilização desta planta como fitoterápico de forma segura. Entretanto, recomenda-se que seu uso seja moderado e de acordo com a dosagem prescrita, e que ainda, deve ser levado em consideração que seu uso não deve ser por tempo ilimitado.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Católica de Pelotas e ao Curso de Ciências Biológicas, especialmente ao Laboratório de Genética, da Escola de Saúde pela oportunidade do desenvolvimento deste trabalho e aos colegas estagiários pelo apoio e auxílio na realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

- Ames BN 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 221: 1256-1264.
- Berrino F, Krogh V, Riboli E 2003. Epidemiology studies on diet and cancer. *Tumori* 89: 581-585.
- Bertini LM 2005. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma* 17: 80-83.
- Davis RH 1998. *Aloe vera*: new products for the cosmetics and pharmaceutical industry. In *Aloe vera* Congress. Summary's Book.
- De Marini DM 1998. Dietary interventions of human carcinogenesis. *Mutat Res* 400: 457-465.
- Drewnowski A, Gomez-Carneros C 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Am J Clin Nutr* 72: 1424-1435.
- Esmat AY, Tomasseto C, Rio MC 2006. Cytotoxicity of a natural anthraquinone (Aloin) against human breast cancer cell lines with and without ErbB-2: topoisomerase IIalpha coamplification. *Cancer Biol Ther* 5: 97-103.
- Fenech M 1997. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. *Mutat Res* 391: 11-18.
- Furlan MR 1998. Cultivo de Plantas Medicinais. *Coleção Agroindústria*, 13. Edição SEBRAE - Cuiabá, Mato Grosso. p.137.
- González-Quevedo M 1990. Compendio de Investigaciones sobre el *Aloe barbadensis* Miller (Sábila) cultivado en Cuba (I). La Habana: Imprenta de la Dirección Política Principal de las FAR.
- Gowda DC 1979. Structural studies of polysaccharides from *Aloe vera*. *Carbohydrate Res* 72: 201-205.
- Kim Hs, Kacew S, Lee Bm 1999. *In vitro* chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis* Miller, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*). *Carcinogenesis* 20: 1637-1640.
- Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, Speck W, Tainer B, Zeiger E 1986. *Salmonella* mutagenicity tests: II. Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mutagen* 8 (Suppl 7): 1-119.
- Ramos RA, Edreira A, Aymee VG, Aida EA 1996. Evaluación genotóxica de un extracto acuoso de *Aloe vera* L. *Rev Cubana Plant Med* 1: 118-123.
- Ribeiro LR, Salvadori DMF, Marques EK 2003. *Mutagênese ambiental*. Canoas-RS, ULBRA. p 356.
- Sánchez-Lamar Á, Flores M 1999. Genotoxicidad de *Phyllanthus orbicularis* evaluada el ensayo de micronúcleos em células de ovario de hámster chino. *Rev Cubana Invest Biomed* 18: 22-23.
- Sartori MRK 2005. *Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores de Acmela brasiliensis Spreng*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 81f.
- Vizoso P, Fishing R, García L, Arilia RRA, Piloto FJ, Rivero MR 2000. Derivados antraquinônicos del *Aloe vera* L tamizaje genotóxico. *Rev Cuba Plantas Med* 5: 46-50.
- Wang Zw, Zhou Jm, Huang Zs, Iang AP, Liu Zc, Xian YF, Zeng YZ, Zhu XF 2004 *Aloe polysaccharides* mediated radioprotective effect through the inhibition of apoptosis. *Radiat Res* 45: 447-454.
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K 1992. *Salmonella* mutagenicity tests: V. Results from the testing of 311 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 19 (Suppl 21): 2-141.