

**MU**

**MUTAGÊNESE**



## Biomonitoramento da região do médio Rio de Contas através da análise de mutagenicidade em *Leptodactylus latrans* (Anura, Leptodactylidae)

Freitas<sup>1</sup>, L.B; Lemos, P.E<sup>3</sup>; Rodrigues, I.S<sup>3</sup>; Paulo, R. A. M. A<sup>2</sup>; Garcia,C<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação Mestrado Genética, Biodiversidade e Conservação – UESB; <sup>2</sup>Docente do Programa de Pós-Graduação Mestrado Genética, Biodiversidade e Conservação -UESB; <sup>3</sup>Discente do curso Licenciatura Plena em Ciências Biológicas-UESB.

*lucyfreitas@yahoo.com.br*

**Palavras-chave:** alterações nucleares, bioindicador, contaminação ambiental, anura e genotoxicidade

A bacia do rio de Contas é um dos principais recursos hídricos do estado da Bahia e recebe muitos dejetos derivados de indústrias, esgoto doméstico e atividades extrativas, afetando diretamente a qualidade de sua água. Estudo tem demonstrado que análises de genotoxicidade são importantes pois permitem identificar a ação de agentes tóxicos sobre o material genético, refletindo na qualidade do ambiente. O presente trabalho teve como objetivo, avaliar a ocorrência de alterações na estrutura do núcleo de células eritrocíticas de *Leptodactylus latrans* em regiões previamente caracterizadas como impactadas pela contaminação por metais traço na região do Médio Rio de Contas nos municípios de Jequié/BA, Jitaúna e Ipiaú. Para a análise mutagênica foram realizados esfregaços sanguíneos de 26 amostras, envolvendo indivíduos de ambos os sexos, e analisadas um total de 78 mil células. Diferentes alterações nucleares foram encontradas, dentre elas destacam-se: micronúcleos, núcleo bulboso, entalhado, bilobado, lobado e em formato de oito, sendo núcleo bulboso e lobado as alterações mais frequentes. Pode-se observar que animais maiores e aqueles que possuíam alterações morfológicas, como tumores viscerais, apresentaram uma maior quantidade de modificações na estrutura nuclear. As análises identificaram quantidade significativa de alterações genéticas (0,05%), considerada alta em relação a outros trabalhos utilizando anfíbios como bioindicadores, e essas foram associadas, principalmente, a áreas de desague de frigoríficos e mineradoras. Esses dados são considerados preocupantes, pois refletem a degradação dos corpos d'água, o que pode afetar diretamente a população local pelo processo de bioacumulação, tanto pelo consumo de água contaminada, como pelo consumo desses animais, bastante apreciados na região. O presente trabalho traz importante contribuição para o biomonitoramento do Rio de Contas.

Apoio financeiro: Petrobras (PRHPB211)

## Antileishmanial miltefosine (Impavido®) induz danos ao DNA *in vivo*.

Castelo-Branco, PV<sup>1</sup>; Silva, PP<sup>1</sup>; Soares, REP<sup>1</sup>; Jesus, LCL<sup>1</sup>; Pereira, SRF<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biologia Molecular – LabGeM, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís-MA.

*ifepv@yahoo.com.br*

**Palavras-chave:** miltefosine, genotoxicidade, mutagenicidade

O miltefosine (hexadecilfosfolina), registrado como Impavido<sup>®</sup> surgiu nos Estados Unidos, na década de 80 para tratamento de câncer de pele, porém, mostrou-se bastante tóxico. Estudos posteriores mostraram que este medicamento também tinha atividade contra *Leishmania*, sendo introduzido como tratamento em 2002 na Índia. A identificação desse fármaco como antileishmanial é considerada um importante avanço terapêutico porque é o primeiro agente oral para tratamento de leishmanioses, facilitando a continuidade do tratamento, além de ser uma alternativa terapêutica no caso das infecções resistentes à terapia convencional com antimônios pentavalentes. Por ser de fácil uso e eficiente, a Organização Mundial de Saúde deu aval para que o miltefosine fosse testado no novo mundo, inclusive no Brasil, um dos países que está no topo das estatísticas da doença. Embora esta droga tenha sido extensivamente estudada nos últimos anos, não há dados relativos sobre seu potencial genotóxico e mutagênico ou sobre sua capacidade de induzir estresse oxidativo. Assim, este trabalho se propôs a avaliar o efeito deste medicamento sobre o material genético em sistema *in vivo*. Para isso, foram usados 25 camundongos machos suíços *Mus musculus*, pesando 30 gramas, com cerca de 60 dias de vida, divididos em cinco grupos de tratamento. O medicamento foi dissolvido em água destilada e a administração nos camundongos foi realizada por via oral. Os grupos teste foram definidos com base na dose recomendada pela OMS para tratamento em seres humanos: D1 (0,175 mg/kg); D2 (2,5 mg/kg); D3 (5,0 mg/kg). No controle negativo administraram-se água destilada e, no controle positivo, utilizaram-se ciclofosfamida (50 mg/kg), administrada por via intraperitoneal. O tratamento dos camundongos foi agudo por um período de 24 horas. Utilizou-se, para avaliação de genotoxicidade, os ensaios do cometa convencional e modificado pela enzima formamidopirimidina DNA glicosilase (Fpg) e, para avaliação de mutagenicidade, o teste do micronúcleo em medula óssea. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e os resultados foram analisados pelo teste ANOVA seguido pelo teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%. Os resultados não revelaram citotoxicidade do miltefosine nas doses avaliadas, mas demonstraram que este medicamento é genotóxico. Através do teste do micronúcleo, verificou-se que o miltefosine também se apresentou mutagênico, não dose-dependente. Este foi o primeiro estudo que avaliou os efeitos genotóxicos e mutagênicos do miltefosine. Estudos adicionais devem ser realizados para verificar quais possíveis mecanismos podem estar envolvidos na sua ação mutagênica.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico do Maranhão – FAPEMA

## Avaliação *in vivo* do potencial mutagênico do extrato de *Agave sisalana* através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos

Lima, AF <sup>1</sup>; Tavares, AV <sup>2</sup>; Silva JA<sup>3</sup>; Lira, WM <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Mutagênese Ambiental/Centro de Ciências Biológica e da Saúde UEPB, Campina Grande, PB; <sup>2</sup>Universidade Federal de Campina Grande UFCG, Cuité, PB; <sup>3</sup>Faculdade de Farmácia UEPB, Campina Grande, PB; <sup>4</sup>Centro de Ciência Biológicas e da Saúde UEPB, Campina Grande, PB

wlira@hotmail.com

**Palavras-chave:** *Agave sisalana*; mutagênico; micronúcleos; sangue periférico; camundongos

A tradição de utilizar plantas medicinais, na busca de tratamentos e paliativos para saúde é algo intrínseco da cultura popular, este fato é corroborado pelos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) que afirma que 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% usam plantas medicinais ou preparações destas. Se faz necessário, que a população compreenda que as plantas possuem diversas propriedades e seu uso pode se tornar inviável. As plantas produzem substâncias químicas que podem atuar benéficamente ou agirem de forma tóxica sobre outros organismos. Portanto, para que o homem possa fazer uso medicinal de uma espécie vegetal com segurança, é necessário que a mesma seja estudada sob o ponto de vista químico, farmacológico e toxicológico. Nesta perspectiva o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial mutagênico do extrato do vegetal *Agave sisalana* que pertence à família Asparagaceae. Para avaliação do potencial mutagênico foi utilizado o teste *in vivo* de micronúcleo em sangue periférico de camundongos. Foram utilizados camundongos Swins albinos *Mus musculus* (aproximadamente 25g). Para o tratamento os animais foram divididos em 3 grupos por concentração sendo composto cada um deles por 6 animais, sendo 3 machos e 3 fêmeas. Cada um deles recebeu diferentes doses do extrato vegetal em um volume máximo de 0,1 mL para cada 10g de peso corpóreo. As concentrações utilizadas foram de 500, 1000 e 2000 mg/kg p.c. via *gavage*. Como controle negativo foi utilizado 0,3 ml água destilada. O sangue foi coletado após 30 horas da administração, confeccionou-se as lâminas, que em seguida foram coradas com Giemsa para posterior análise. A frequência de micronúcleos em células sanguíneas foi obtida através de contagem de 2000 eritrócitos policromáticos. Os resultados foram avaliados pelo teste-t de Student. Nas condições testadas *A.sisalana* não apresentou mutagenicidade em nenhuma das concentrações, entretanto nos grupos submetidos aos tratamentos de 500 e 2000 mg/kg p.c. houve uma redução significativa na frequência de micronúcleos quando comparados com o grupo controle negativo. Esse decréscimo revela um possível potencial de proteção ao cromossomo, que implica a necessidade da realização de estudos posteriores, avaliando o potencial antimutagênico dessa planta.

Apoio Financeiro: UEPB, CNPq

## Análise das atividades biológicas dos extratos das folhas da acerola

MAIA IGS; ROCHA, H.A.O; SCORTECCI, KC

**Palavras-chave:** nanopartículas, prata, atividade anti-oxidante, acerola

O uso de plantas na promoção e cuidado da saúde é datado desde as primeiras civilizações. Muito se sabe hoje sobre os metabólitos secundários no combate aos radicais livres e estresse oxidativo. Uma forma de avaliar o potencial antioxidante de um sistema biológico é através da síntese de nanopartículas de metal, as quais ao serem formadas contribuem no combate ao estresse oxidativo. Diversas plantas presentes na alimentação tiveram suas atividades antioxidantes avaliadas, porém, poucas são as relações existentes entre as atividades antioxidantes e a síntese de nanopartículas. *Malpighia glabra*, conhecida popularmente como acerola, é uma planta cujos frutos são bastante utilizados na alimentação, e muito já se sabe sobre seu potencial antioxidante, rica em vitamina C. Porém, não existem estudos relacionados às folhas da acerola e seu potencial biológico. Com isso, o objetivo desse estudo foi de relacionar a atividade antioxidante presente nas folhas da acerola, *Malpighia glabra*, com a síntese de nanopartículas de prata. Com os extratos produzidos a partir de folhas frescas foram testados algumas atividades antioxidantes e antiproliferativas. Após as análises dos dados, alguns desses extratos, como o extrato hexânico - clorofórmico, extrato clorofórmico e o extrato com éter de petróleo e etanol foram considerados interessantes para estudos por apresentarem atividade antioxidante e não serem citotóxicos para a cultura de células 3T3 (fibroblastos normais), destacando o extrato clorofórmio e éter de petróleo com 60% a mais de proliferação de células, extrato hexânico com 20% de proliferação e o extrato aquoso com 30%. Dentre uma vertente deste trabalho está a produção de nanopartículas de prata a partir de alguns dos potenciais extratos identificados das folhas de acerola. Foram adicionadas aos extratos, soluções com nitrato de prata. A formação das nanopartículas foi visualizada através de espectrofotometria e microscopia eletrônica de varredura. Não foram visualizados grandes picos de absorvância quando comparado as soluções controles com a o teste. Esses resultados foram observados nos tempos de 30min até 24h de reação. A partir das nanopartículas obtidas, estas foram analisadas por microscopia de varredura. O resultado obtido indicou formação de esferas variando de 10 a 50 micrometros. Estes resultados mostraram que num tempo de incubação de 30 minutos já é possível obter nanopartículas, entretanto estas foram consideradas grandes, e que conseqüentemente não tem o apelo biotecnológico. Desta forma, estes resultados permitiram observar que é importante realizarmos novos ensaios, no qual será modificado o protocolo em relação a adição do nitrato de prata com o extrato vegetal, de modo a melhorar a eficiência na produção destas como o tamanho.

Suporte financeiro: CNPq

## Potencial genotóxico do látex de pinhão-roxo (*Jatropha gossypifolia* L.)

Almeida, PM<sup>1,2</sup>; Araújo, SS<sup>1</sup>; Marin-Morales, MA<sup>3</sup>; Benko-Iseppon, AM<sup>1</sup>; Brasileiro-Vidal, AC<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco; <sup>2</sup>Universidade Estadual do Piauí (UESPI/FACIME), Teresina, Piauí; <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, São Paulo

*brasileirovidal.ac@gmail.com*

**Keywords:** Genotoxicidade, teste *Allium cepa*, planta medicinal

*Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae), popularmente conhecida como pinhão-roxo, é um arbusto leitoso que ocorre nas cinco regiões brasileiras, conhecida por suas propriedades medicinais. O látex e as folhas têm efeito bactericida e cicatrizante, enquanto as raízes possuem substâncias antitumorais. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos do látex de *J. gossypifolia*, utilizando o sistema-teste *Allium cepa* L. Sementes de *A. cepa* cv. Vale Ouro IPA 11 foram submetidas a cinco concentrações do látex (1,25; 2,5; 5; 10 e 20 mL/L), utilizando como controle negativo água ultrapura e como controles positivos o MMS (Metilmetanosulfonato,  $4 \times 10^{-4}$  M) e o herbicida trifluralina (0,84 ppm). As raízes de cada tratamento foram medidas, fixadas e coradas com reativo de Schiff. Foram analisadas 5.000 células da região meristemática por tratamento. A análise estatística foi realizada mediante teste de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de significância. A toxicidade (avaliação do crescimento radicular), citotoxicidade (frequência do índice mitótico) e genotoxicidade (frequência de aberrações cromossômicas) foram os parâmetros avaliados. O látex mostrou uma diminuição significativa nos valores médios de crescimento da raiz, assim como o índice mitótico das concentrações testadas, exceto para 1,25 mL/L, quando comparados com os resultados do controle negativo. As concentrações de 1,25; 2,5 e 5 mL/L induziram aberrações cromossômicas significativas, como aderências cromossômicas, C-metáfases e/ou pontes cromossômicas com efeitos genotóxicos. A frequência de pontes cromossômicas também indicou potencial mutagênico para os cromossomos de *J. gossypifolia*. Considerando o uso do látex em terapias populares, e que o sistema-teste *A. cepa* apresenta boa correlação com os testes realizados em mamíferos, pode-se inferir que o seu uso para fins medicinais pode ser prejudicial para a saúde humana, especialmente se ingerido.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FACEPE

## Avaliação do potencial tóxico, citotóxico e genotóxico do extrato foliar de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan por meio do sistema-teste *Allium cepa* L.

Correia, DS<sup>1</sup>; Siqueira, EA<sup>1</sup>; Araújo, SS<sup>1</sup>; Silva, CMA<sup>2</sup>; Silva, MV<sup>2</sup>; Brasileiro-Vidal, AC<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Departamento de Genética, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica/Centro de Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE

*brasileirovidal.ac@gmail.com*

**Palavras-chave:** Planta medicinal, Angico, *Allium cepa* L., Toxicidade, Extrato ciclohexânico

A espécie *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (família Fabaceae) é arbusto alto também conhecido por angico. No Brasil, ocorre em uma faixa compreendida desde o Maranhão até São Paulo, passando por Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, sendo uma das espécies lenhosas típicas do bioma Caatinga. Possui potencial terapêutico, devido a sua ação antisséptica e cicatrizante. No entanto, não se conhece os possíveis efeitos adversos que essa espécie pode causar à saúde humana. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial tóxico, citotóxico e genotóxico de diferentes concentrações do extrato ciclohexânico de *A. colubrina* por meio do sistema teste *Allium cepa* L. (cebola). Para a realização do experimento, sementes de cebola foram germinadas em água ultrapura. Posteriormente, foram transferidas para as concentrações do extrato ciclohexânico: 0,78 mg/mL; 1,56 mg/mL; 3,125 mg/mL. Como controle negativo, foi utilizada água ultra pura e como controles positivos, Metilmetano sulfonato (MMS,  $4.10^{-4}$  Mv), e o herbicida Trifluralina (0,84 ppm). Após 24 horas de exposição, as raízes de cada tratamento foram medidas, fixadas e coradas com reativo de Schiff. Foram analisadas 2.000 células da região meristemática por tratamento. A análise estatística foi realizada mediante teste de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de significância. A toxicidade (avaliação do crescimento radicular), citotoxicidade (frequência do índice mitótico) e genotoxicidade (frequência de aberrações cromossômicas) foram os parâmetros avaliados. Na avaliação do índice mitótico, não houve variação significativa em nenhuma das concentrações, no entanto, todas as concentrações estudadas apresentaram atividade tóxica. Apenas a concentração de 3,125 mg/mL apresentou atividade genotóxica significativa em comparação ao controle negativo, onde foi verificada a presença de células binucleadas. Por essa razão, o uso do extrato ciclohexânico, especialmente na concentração 3,125 mg/mL, deve ser feito com cautela.

Suporte Financeiro: CNPq

## Subtipos moleculares mais frequentes do câncer de mama em pacientes atendidas pela Unacon em Teixeira de Freitas-BA

GUSMÃO, ENS<sup>1</sup>; MACENA, TNS<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade do Estado da Bahia, UNEB, Teixeira de Freitas, BA; <sup>2</sup>Universidade do Estado da Bahia, UNEB, Teixeira de Freitas, BA

*neta\_gusmao@hotmail.com*

**Palavras-chave:** mama, DNA, neoplasia, câncer, mutagênese.

O câncer de mama figura como uma das patologias que mais atinge a população feminina no mundo. Essa neoplasia apresenta alta complexidade e heterogeneidade, o que pode dificultar as condutas clínicas. A partir do desenvolvimento dos microarranjos de DNA, foi possível identificar cinco diferentes subtipos moleculares do câncer mamário: luminal A, geralmente se configuram como tumores de baixo grau histológico e baixa resposta à quimioterapia, bem como melhor prognóstico em relação às demais neoplasias mamárias malignas; luminal B, superexpressão de HER2, basal-símile e mama normal-símile. De acordo com a literatura, a identificação do subtipo molecular do câncer de mama permite a distinção entre carcinomas mamários morfológica e histologicamente semelhantes, mas que apresentam respostas terapêuticas e prognósticas diferentes, o que pode orientar o tratamento e prognóstico dos pacientes. Sob esse contexto, conhecer aspectos sobre a classificação dos subtipos do câncer de mama pode contribuir para uma melhor compreensão dos padrões gerais da doença dentro de um grupo populacional. Desse modo, essa pesquisa teve como objetivo identificar os subtipos de cânceres mamários mais frequentes em pacientes atendidas pela Unidade de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON), em Teixeira de Freitas-BA, no período de 2010 a 2012. Trata-se de um estudo descritivo-quantitativo, para o qual foi realizada a análise retrospectiva de fichas de atendimento de pacientes diagnosticadas e/ou submetidas a tratamento de câncer de mama, de janeiro de 2010 a dezembro de 2012. A pesquisa foi avaliada pela Comissão de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade do Estado da Bahia (CAEE: 21777513.7.0000.0057). Foram analisados 1.682 (65%) prontuários, relacionados ao período da pesquisa, dos quais em 113 (6.7%) foram identificados casos de câncer de mama. Foi possível verificar que mais de 24% dos casos pesquisados não apresentavam informações sobre os perfis gênicos dos tumores, o que inviabilizou a sua classificação. Não foram encontrados casos do subtipo normal-símile. Constatou-se também que 14.16% dos casos analisados faziam parte do grupo superexpressão de HER2 e 12.40% do grupo basal-símile. Verificou-se que aproximadamente 47.78% dos cânceres mamários encontrados, a maioria, se classificavam dentro do grupo luminal, sendo 20.35% se caracterizando como luminal A e 27.43% luminal B. Sob esse aspecto, os resultados coadunam com o apontado pela literatura analisada, a qual indica que mais de 60% dos carcinomas de mama fazem parte do grupo luminal. Nesse contexto, a investigação molecular do câncer de mama pode permitir a identificação de alvos terapêuticos mais eficientes e no futuro esse conhecimento genético pode servir também de subsídio para o desenvolvimento de políticas de rastreamento de controle do câncer mamário. Portanto, percebe-se a relevância acerca do perfil genético dos tumores mamários, no sentido de aprimorar condutas clínicas e tratamentos.

## Screening de mutações ligadas à resistência sítio-alvo à cipermetrina em populações de *Aedes aegypti* do Estado de Pernambuco

Pessoa, LFF<sup>1</sup>; Cavalcanti, AEHD<sup>1</sup>; Paiva, MHS<sup>1</sup>; Ayres, CFJ<sup>1</sup>; Melo-Santos, MAV<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Recife, PE

fefreitasp@hotmail.com

**Palavras-chave:** Dengue, Culicídeo, Mutações Kdr, Piretróides, Resistência Sítio-alvo

A dengue é uma das doenças virais transmissíveis de maior repercussão no cenário epidemiológico mundial, sobretudo pela inexistência de vacinas para sua prevenção. Assim, a principal estratégia para seu controle está baseada em ações integradas para a eliminação do vetor primário, *Aedes aegypti*, implicado no ciclo de transmissão da doença. Inseticidas piretróides são utilizados como adaltecidas no Programa Nacional de Controle da Dengue desde 2003, sobretudo, em pontos estratégicos de disseminação do mosquito. No entanto, o uso intensivo destes compostos tem aumentado a pressão de exposição, levando à seleção de indivíduos resistentes. A resistência aos piretróides tem sido detectada, monitorada e caracterizada em populações brasileiras de *A. aegypti*. Alguns estudos revelam o envolvimento do mecanismo do tipo sítio alvo, relacionado à mutações no gene do canal de sódio regulado por voltagem (Nav), o qual pode induzir ao efeito knockdown (*Kdr*). Neste sentido, o presente estudo realizou um rastreamento da mutação *Phe1534Cys* no gene Nav em 16 populações de *A. aegypti* do Estado de Pernambuco, previamente caracterizadas como resistentes à um tipo de piretróide, a cipermetrina. Para a detecção da mutação, amostras de DNA de 10 fêmeas susceptíveis e 10 resistentes à dose diagnóstica da cipermetrina (8µg/garrafa), fenotipadas pelo teste de garrafa, foram analisadas para cada população. As amostras foram submetidas a uma PCR alelo-específica e os genótipos dos indivíduos visualizados diretamente através de gel de agarose a 2%. Para testar a hipótese da associação entre a mutação e a resistência, os dados foram analisados através do teste exato de Fisher ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstraram que o alelo mutante *1534Cys* está disseminado em todas as populações analisadas, apenas em indivíduos heterozigotos, cuja frequência em resistentes variou de 0,12 a 1,00 e em susceptíveis 0,10 a 0,89. Nas populações de Ipojuca, Glória do Goitá e Agrestina foram observados apenas indivíduos heterozigotos, tanto no grupo dos susceptíveis, quanto no grupo dos resistentes. Além disso, na população de São José do Egito não foi observado o alelo mutante nos indivíduos fenotipados como resistentes. Considerando que a mutação *Kdr* é de caráter recessivo, conclui-se que a elevada frequência de indivíduos heterozigotos associada à contínua pressão de seleção pode favorecer a fixação do alelo mutante nas populações investigadas. No entanto, os achados deste estudo não explicam a resistência encontrada, sugerindo a interação de outras mutações *Kdr* e/ou o envolvimento de outros mecanismos de resistência, como por exemplo, o mecanismo metabólico.

Órgão Financiador: CNPq

## *Plukenetia volubilis* Extracts may be Induce Apoptosis and/or Necrosis in cell HeLa

Nascimento, AKL<sup>1,2</sup>; Maia, IGS; Melo-Silveira, RF<sup>2</sup>; Rocha, HAO<sup>2</sup>; Scortecci, KC<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Genética e Biologia Celular, UFRN, Natal, RN; <sup>2</sup>Laboratório de Biotecnologia dos Polímeros Naturais, Departamento de Bioquímica, UFRN, Natal, RN.

karinalima.bio@gmail.com, kacscort@yahoo.com

**Keywords:** Phytochemicals, chemoprevention, mutagenesis, cell death.

Natural products have a significant importance as a source of new drugs and their potential benefits have been not much investigated. Among these compounds, the phytochemicals may be defined as non-nutritive plant chemicals that have protective or disease preventive properties. These properties are called chemoprevention and they are responsible for delaying the development of diseases such as cancer. The cancer results from multiple stages and mechanisms of carcinogenesis, involving mutagenesis, cell death and epigenetic mechanisms. Therefore, the screen from new plant compounds it is important and it has an important impact for development of then drugs, e.g, in cancer treatment. Thus, the aim of this study was to analyze the morphology of HeLa cell lineage (cervical cancer) that was treated with different extracts from *Plukenetia volubilis* and it was evaluate its effects on HeLa cells, and it was observed if the cell death observed was via necrosis and/or apoptosis using flow cytometer. The morphology was observed by staining the culture with DAPI, where cells were seeded at a density of  $2 \times 10^6$  cells per well. After 24h of incubation, cells were treated with leaf extract at 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for 24 h. Then, samples were subsequently incubated in DAPI solution (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) at room temperature for 30min, then it was washed with PBS, and examined under a fluorescence microscope within 24h. In order to determine the mechanism of cell death, it was used an Annexin V-FITC apoptosis detection kit (Invitrogen, Catalog no. V13242) was used according to the manufacturer's instructions, with some modifications. The cells were seeded at  $8 \times 10^4$  cells per well in 6-well plates. The treatment was performed with 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of leaf extract for 24h and then the cells were stained with Annexin V-FITC and propidium iodide (PI). The results showed that HeLa cells treated with *Plukenetia volubilis* extracts changed the nuclear morphology when compared with control cells (not treated). The treatment with hexane extract (HE) and metanol extract (ME) induced some cellular modifications such as pyknotic bodies, membrane blebbing, and nuclear condensation. The flow cytometer showed that the exposure of HeLa cells to extracts reduced the cell viability percentage and it was observed for the HE, ME and aqueous extract (AE) a greater amount of positively stained for cell death markers. It was observed that 26%, 27% and 16% of cells were in stage apoptosis, for HE, ME and AE respectively. It was also observed a higher percentage of cells stained for Annexin+/ PI- indicating an early stage of apoptosis, but it was also a significant amount of cells stained with Annexin+/ PI+ when compared to control, this observation may indicate the presence of a population of cells in late apoptosis. Therefore, the results showed also a nuclei fragmentation by labeling with DAPI. Then, all these observations indicates that these three extracts from *P. volubilis* induce HeLa cells cell death primarily via apoptosis.

Financial Support: CAPES, CNPq

## Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico em amostras de água do açude Entremontes (Parnamirim/PE) mediante o bioensaio com *Allium cepa* L

Pereira, IFM<sup>1</sup>; Silva, DC<sup>1</sup>; Araújo, SS<sup>2</sup>; Brasileiro-Vidal, AC<sup>2</sup>; Bortoleti, KCA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, PE; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE

ilkafernandaa@hotmail.com

**Palavras-chave:** Semiárido, Monitoramento ambiental, Entremontes, Genotoxicidade, Citotoxicidade

Considerado o segundo maior reservatório do estado de Pernambuco, o açude Entremontes (Município de Parnamirim) pertence à Bacia do Rio Brígida, destacando-se como fonte de abastecimento de água para diferentes localidades da região semiárida pernambucana, bem como pela sua utilização em práticas como a agricultura irrigada, a qual pode promover o acúmulo de compostos genotóxicos neste ecossistema. Diante deste cenário, o presente trabalho investigou o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de possíveis contaminantes presentes neste recurso hídrico mediante a utilização de bioensaios genéticos com *Allium cepa* L. Para isto, em abril/2014, amostras de água foram coletadas em três pontos localizados em afluentes próximos ao açude (Pontos I e II) e no próprio reservatório (Ponto III). Cem sementes de *A. cepa* foram distribuídas em cada placa de Petri, sendo três expostas às amostras de água coletadas e três submetidas aos controles positivos [Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo) e MMS (metil metano-sulfonato,  $4 \times 10^{-4}$  Mv)] e negativo (água ultrapura). As raízes germinadas foram coletadas, medidas e fixadas em Carnoy. Para preparação das lâminas, as raízes foram lavadas, hidrolisadas em HCL 1N a 60°C, coradas com reativo de Schiff e carmim acético 2%. Foram confeccionadas 10 lâminas por tratamento, onde 500 células foram analisadas, totalizando 5000 células/tratamento. As análises da Variação do Comprimento Médio das Raízes (VCMR), Índice Mitótico (IM), Índice de Alterações Cromossômicas (IAC) e Incidência de micronúcleo (IMc) foram avaliados estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney 5%. Os pontos I, II e III apresentaram Índice de Germinação (IG) igual a 65%, 60% e 75%, respectivamente, sendo estes valores próximos ou igual (para o ponto II) ao controle negativo (60%). A análise da VCMR não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos utilizados [PI (1,7 cm), PII (1,64 cm) e PIII (1,5 cm)] e o controle negativo (1,62 cm). Por sua vez, os valores de IM foram 30,45%, 31,44% e 35,15% para as amostras de PI, PII e PIII, respectivamente. Apenas o IM do ponto III divergiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle negativo (27,74%), sugerindo potencial citotóxico para água do local amostrado. Adicionalmente, foram observadas diferenças significativas do IAC ( $p < 0,05$ ) entre dois tratamentos analisados [PI (2,53) e PIII (3,16)] e o controle negativo (0,63), indicando atividade genotóxica para a água dos pontos I e III. Considerando o IMc nas células meristemáticas de *A. cepa*, os pontos I (0,19), II (0,09) e III (0,20) não apresentaram potencial mutagênico em comparação ao controle negativo (0,09). Tais informações indicam a presença de poluentes orgânicos e/ou inorgânicos com ação citotóxica e genotóxica no açude Entremontes, os quais podem gerar efeitos deletérios na biota aquática, bem como comprometer a qualidade da água, até mesmo para consumo humano, deste ecossistema.

Apoio financeiro: CNPq, Ministério da Integração Nacional, UFPE, UNIVASF

## Genotoxicidade espaço-temporal em guaiamum (*Cardisoma guanhumí*) como ferramenta de monitoramento de manguezais tropicais do Nordeste do Brasil.

Falcão, CBR<sup>1,3</sup>; Pinheiro, MAA<sup>2</sup>; Torres, RA<sup>1</sup>; Adam, ML<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental (LAGEA), UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Crusta – Grupo de Pesquisa em Biologia de Crustáceos, Unesp, São Vicente, SP; <sup>3</sup>Programa de Pós-graduação em Genética, Dep. Genética, UFPE, Recife, PE;

<sup>4</sup>Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão (CAV), UFPE, Vitória de Santo Antão, PE

caiotal@uol.com.br

**Palavras-chave:** dano genômico, teste do micronúcleo, ensaio cometa, manguezais, caranguejo.

Os manguezais estão entre os mais ameaçados ecossistemas do mundo devido ao crescimento e industrialização das comunidades humanas. Em Pernambuco, uma parcela significativa da população concentra-se na região costeira, exercendo grande pressão antrópica sobre os manguezais. Nas últimas décadas, muitos estudos têm utilizado marcadores genéticos em espécies animais residentes, objetivando inferir danos ao genoma como consequência do processo de ocupação. Tais danos podem conduzir uma diminuição na diversidade genética das populações podendo levar ao colapso das populações e espécies. O guaiamum (*Cardisoma guanhumí*) é um crustáceo de extensa distribuição na costa brasileira e de grande importância econômica como fonte de subsistência para muitas famílias. Diante disto, objetivou-se avaliar espaço-temporalmente os possíveis danos genômicos em *C. guanhumí* de forma a inferir o atual status de conservação da espécie e de cinco manguezais do estado de Pernambuco. Duas distintas metodologias foram utilizadas: Teste do Micronúcleo (danos por macrolesões no DNA) e Ensaio Cometa (danos por microlesões no DNA). Quatro períodos de amostragem foram estabelecidos para o diagnóstico e monitoramento do status de conservação da espécie e dos ecossistemas. Os períodos foram as estações de inverno e verão nos anos de 2012 e 2013. Dez indivíduos de *C. guanhumí* foram coletados em cada período em cinco manguezais relativos aos estuários dos rios Goiana e Jaguaribe (litoral norte), Capibaribe (marco central do litoral) e rios Sirinhaém e Formoso (litoral sul), totalizando 200 indivíduos amostrados. Além disso, para grupo controle, 10 exemplares de *C. ganhumí* foram amostrados na estação ecológica da Juréia-Itatins (área de proteção ambiental no estado de São Paulo). Cerca de mil células de cada indivíduo foram analisadas para o Teste do Micronúcleo e cem células para o Ensaio Cometa, em cada período amostral. Os resultados mostraram significativo aumento na frequência de células micronucleadas no inverno de 2012, nos exemplares dos manguezais dos rios Goiana, Capibaribe, Sirinhaém e Formoso e, pelo Ensaio Cometa, significativo dano genômico naqueles dos estuários do Goiana, Jaguaribe e Capibaribe no mesmo período. Nenhuma alteração significativa, no entanto, foi identificada para os demais períodos amostrados. Os dados de danificação genômica acima mencionados coincidem com o rigoroso inverno do ano de 2012, atípico para a região. Provavelmente o grande volume de água trazido até a região litorânea pelos rios pode ter carreado um proporcional volume de poluentes (industriais/domésticos) para as zonas dos manguezais, afetando significativamente os *C. ganhumí* nos ecossistemas avaliados. Isto indicou a resiliência da espécie e dos manguezais frente a um episódio atípico de oscilação climática, que disponibilizou no ambiente uma carga excessiva de poluentes. Tal evidência reforça o poder dos métodos de detecção de dano genômico nas comunidades bióticas, permitindo um rápido diagnóstico, monitoramento e predição dos efeitos causados por oscilações climáticas ao longo destes ecossistemas ameaçados.

Suporte Financeiro: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

## Teste de micronúcleo com *Tradescantia pallida* na água da Lagoa das Bateias no município de Vitória da Conquista, Bahia.

Pinto, MAB <sup>1</sup>; Maffei, EMD <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discente da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; <sup>2</sup>Docente da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
*mari-abp@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Alterações cromossômicas; Citogenética; Genotoxicidade; Mutagênese; Teste de MN.

As águas superficiais estão entre os recursos naturais mais afetados pelas ações antrópicas em ambientes urbanos. A região da Lagoa das Bateias vem sofrendo esse tipo de interferência devido à ocupação desordenada o que ocasiona liberação de dejetos de esgoto. Neste sentido este trabalho tem como objetivo aplicar teste de micronúcleo (MN) utilizando *Tradescantia pallida* como bioindicador para análise mutagênica da água. Para realização dessa pesquisa foi coletada água da Lagoa do Parque Estadual das Bateias, em Vitória da Conquista- BA em abril de 2014. As mudas de *T. pallida* foram coletadas de um canteiro com o ambiente ausente de fontes móveis de poluição. O bioensaio foi montado em frascos de vidro estéreis Becker de 250 mL mantidos à temperatura de 25 °C. Foram feitos três tratamentos com três repetições: Tratamento 1: controle negativo, montado com três amostras de *T. pallida* em água destilada; Tratamento 2: controle positivo, montado com três plantas de *T. pallida* em 100 mL de solução de Malathion a 1% (1mL Malathion para 99 mL de água destilada); Tratamento 3: três plantas de *T. pallida* foram imersas em **água coletada** da Lagoa das Bateias Esperou-se por dez dias em média até o crescimento ideal das raízes (aproximadamente 1 cm). Para a análise citogenética da mitose dos meristemas foi utilizado o coranteorceína-acética 2%. Esperou-se no mínimo 15 minutos para realizar o esmagamento com uma gota de ácido acético 45%. A seguir as lâminas foram congeladas por no mínimo 24h e após a secagem procedeu-se a montagem das lâminas permanentes com lamínulas, xilol e **bálsamo do Canadá**. Posteriormente realizou-se a análise com fotomicroscópio utilizando a objetiva de 40X. Os resultados da análise citogenética do Bioensaio TRAD- MN mostraram que no controle negativo (T1) foram contadas em média 1.000 células e não se observou MN nem alterações cromossômicas. No controle positivo (T2) contou-se 1000 células em média, sendo que o número de MN observado foi de 25. No T3 analisou-se 1046 células e observou-se 22 MN; houve também variação no tamanho dos MN. Na análise qualitativa observaram-se metáfases com cromossomos soltos da placa equatorial na fase de metáfase (C-metáfases). Com base nesses resultados é importante salientar que o número alto de MN e a observação de clastogênese indicam indução de carcinogênese e ainda mutagênese como c-metáfases. Os MN grandes somados ao cromossomo solto (não preso na fibra do fuso) podem levar a não-disjunção e síndromes, além de alterações na estrutura e no número de cromossomos. Dessa forma é possível concluir que a água da Lagoa das Bateias está inapropriada para alguns usos, como pesca e irrigação, práticas comumente realizadas pela população circunvizinha.

## EFEITO MODULADOR DA GENISTEÍNA SOBRE OS DANOS GENÉTICOS CAUSADOS PELO ANTILEISHMANIAL GLUCANTIME® (ANTIMONIATO DE MEGLUMINA).

Belfort, MRC<sup>1</sup>; Soares, REP<sup>1</sup>; De Jesus, LCL<sup>1</sup>; Moreira, VR<sup>1</sup>; Dias, ACS<sup>1</sup>; Castelo-Branco, PV<sup>1</sup>; Silva, PP<sup>1</sup>; Belfort, FRS<sup>1</sup>; Pereira, SRF<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biologia Molecular - LabGeM, UFMA, São Luís, MA

*marta.belfort@yahoo.com.br*

**Palavras-chave:** Leishmaniose; Antimonial, Isoflavona, Genotoxicidade e Mutagenicidade.

Glucantime® (antimoniato de meglumina) é a droga de primeira escolha indicada para o tratamento da Leishmaniose. Este antileishmanial possui vários efeitos tóxicos, inclusive mutagênico, no entanto, o mecanismo pelo qual este fármaco causa danos no DNA ainda não foi elucidado. Por outro lado, a genisteína, principal isoflavonóide presente na soja, possui inúmeros benefícios que são atribuídos ao seu efeito antioxidante, antimutagênico e anticancerígeno. Desta forma, este trabalho teve por objetivos investigar se os danos induzidos no DNA pelo Glucantime® dá-se por oxidação de bases purínicas, e avaliar se a genisteína é capaz de reduzir os danos genéticos causados por este medicamento. Utilizou-se o ensaio do COMETA com digestão com endonuclease FPG para avaliação de lesões genômicas, e o teste do micronúcleo para avaliação de danos clastogênicos. Vinte e cinco camundongos da linhagem Swiss foram divididos em 5 grupos experimentais, sendo eles: controle positivo, nos quais os animais receberam, via ip, ciclofosfamida 50mg/kg; controle de veículo (DMSO 2%); Glucantime (425mg/Kg), por via ip; e três grupos, nos quais os animais receberam doses diárias de genisteína (5mg/kg, 10mg/kg e 20mg/kg) durante 3 dias consecutivos, antes do tratamento com Glucantime (425mg/Kg). Os animais foram eutanasiados 24 horas depois do último tratamento. Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), seguido pelo Teste de Tukey, sendo consideradas significativas as diferenças com  $p < 0,05$ . Os resultados deste trabalho sugerem que o Glucantime® causa danos no DNA por oxidação de suas bases purínicas. O pré-tratamento durante 3 dias com as doses de 5mg/kg, 10mg/kg e 20mg/kg de Genisteína foi capaz de reduzir os danos genéticos induzidos pelo Glucantime®, sendo que a dose de 20mg/kg foi a mais eficaz nessa redução. A observação de que a Genisteína é capaz de reduzir os danos genéticos causados pelo Glucantime® reforça a hipótese de que o estresse oxidativo é um dos mecanismos de ação da droga. Portanto, a descoberta deste mecanismo é importante para a elaboração de estratégias terapêuticas e novas abordagens que visem a redução dos efeitos colaterais desde fármaco sem afetar a sua eficácia no tratamento da leishmaniose.

Apoio Financeiro: CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão-FAPEMA

## Avaliação do efeito antimicrobiano, citotóxico, genotóxico e anti-genotóxico de *Punica granatum* Linn

Araújo, AC; Araújo, ERD; Menezes, BAA; Gomes, RA; Luna, LMA; Silva, TGC; Souza, DRS, Oliveira, DC; Gomes, SS; Silva, DGKC; Tavares, JCM.

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Faculdade de ciências da saúde do Traíri (FACISA)

[annycristinearaujo@gmail.com](mailto:annycristinearaujo@gmail.com)

Palavras-chaves Romã, Planta Medicinal, *Punica granatum* Linn, Antimicrobiana, Citotoxicidade e Genotoxicidade.

A *Punica granatum* Linn é uma planta que produz um fruto conhecido por romã, bastante utilizado para fins medicinais para o tratamento de várias doenças, incluindo doenças infecciosas. A crescente resistência à antibióticos observada nas cepas de *Staphylococcus aureus* vem incentivando a investigação de extratos vegetais que apresentem propriedades antimicrobianas. Assim como tantas outras plantas medicinais, o uso da romã ocorre muitas vezes de maneira indiscriminada. Portanto, o efeito do seu consumo na saúde a nível genético deve ser mais esclarecido. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso da romã na *Staphylococcus aureus*, e de analisar a sua capacidade de citotoxicidade, genotoxicidade e anti-genotoxicidade por meio do teste *Allium cepa*. A atividade antimicrobiana foi realizada em placas por meio de testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão utilizando concentrações decrescente do extrato aquoso. Também foi feita a realização da análise fitoquímica qualitativa da amostra vegetal, sendo esta foi realizada por meio do método de Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Foram testadas duas concentrações diferentes do mesmo extrato utilizado para o teste de atividade antimicrobiana (10 mg/ml e 20 mg/ml). Foram contadas 1000 células/lâmina em duplicata de cada triplicata experimental. O extrato de romã também foi testado junto ao controle positivo, o sulfeto de cobre. A partir da dose de 12,5mg/ml o extrato teve atividade antimicrobiana. Em relação aos fitoquímicos encontrados no estudo observou-se a presença de ácidos fenólicos e flavonoides, sendo a atividade antimicrobiana possivelmente atribuída a estes compostos de acordo com a literatura. Foi observado que o extrato em ambas as doses testadas promoveu uma diminuição do índice mitótico (IM) comparadas ao controle negativo de maneira dose-dependente. O controle positivo também foi capaz de diminuir o IM, contudo ambas as doses do extrato promoveram uma diminuição do IM ainda menor do que o controle positivo. Nenhuma das doses do extrato de romã foi genotóxica. O controle positivo foi capaz de causar metáfase e anáfase alteradas, cromossomo perdido e formação de pontes entre os cromossomos, respetivamente. Desta forma, o extrato de romã parece ser citotóxico, principalmente em concentrações elevadas, mas não genotóxico para nenhuma das doses testadas. Assim, o uso desta planta pode ser uma alternativa terapêutica eficiente, de baixo custo, e, sobretudo, não genotóxica, contra infecções bacterianas causadas por *Staphylococcus aureus*. Contudo, mais análises serão realizadas para a confirmação destes resultados.

Suporte financeiro: FACISA-UFRN/PROPESQ.

## Germinação das sementes, índice mitótico e indução de micronúcleos em *Allium cepa* exposta ao cromo hexavalente

Silva, PCC<sup>1</sup>; Costa, MHP<sup>1,2</sup>; Rocha, CAM<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA, Belém, PA; <sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA.

*priscilacc.silva@gmail.com*

**Palavras chave:** *Allium cepa*, citotoxicidade, genotoxicidade, cromo, micronúcleos.

O cromo existe no ambiente natural sob duas formas principais: Cr<sup>3+</sup> [Cr(III)] e Cr<sup>6+</sup> [Cr(VI)], sendo a forma hexavalente a mais móvel, instável e tóxica. O aumento dos níveis de Cr(VI) exerce um estresse significativo para o ambiente e representa um risco à saúde humana; por conseguinte, é imperativa a mensuração de potenciais riscos de ambientes poluídos por Cr(VI). O objetivo do presente estudo foi determinar os efeitos tóxicos de Cr(VI) sobre a germinação de sementes, alongamento da raiz, mitose na ponta da raiz e indução de micronúcleos na cebola (*Allium cepa*). Para realizar este estudo, as sementes de *A. cepa* foram germinadas em placas de Petri, sob quatro condições diferentes: um controle negativo, em que as sementes foram regadas com água destilada e três grupos de teste (C1, C2 e C3) com sementes regadas com solução de dicromato de potássio a 6, 12 e 24 mg/L, respectivamente. A estatística do qui-quadrado foi utilizada para comparar os dados da taxa de germinação, comprimento e peso das radículas e índice mitótico por meio do teste de aderência. As frequências de micronúcleos foram avaliadas por meio de uma análise de variância (*One Way ANOVA*). Para todas as análises estatísticas foi utilizado o pacote *BioEstat 5.0* (Ayres *et al.*, 2007), com um valor de  $P \leq 0,05$  indicando significância. Não houve diferença significativa quanto à taxa de germinação e às médias de comprimento e peso da radícula. Foi observada diferença estatística na análise do índice mitótico, com o maior valor em C2 e o menor em C3. As frequências de micronúcleos apresentaram diferenças altamente significativas entre os grupos ( $P[ANOVA] = 0,0044$ ). Os resultados aqui apresentados apontam efeitos citotóxicos e, principalmente, genotóxicos do cromo hexavalente, mesmo sem ter afetado a taxa de germinação e o crescimento das radículas em nossos experimentos.

## Efeitos genotóxicos do cromo hexavalente avaliados pelo ensaio cometa e teste do micronúcleo em eritrócitos do peixe *Oreochromis niloticus*

Rocha, CAM<sup>1</sup>; Carsoso, PCS<sup>2</sup>; Cunha, LA<sup>2</sup>; Silva, PCC<sup>1</sup>; Costa, MHP<sup>1,2</sup>; Gomes, CF<sup>1</sup>; Ribeiro Júnior, RFG<sup>1</sup>; Pinheiro, RHS<sup>1</sup>; Burbano, RR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA, Belém, PA; <sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – UFPA, Belém, PA.

*priscilacc.silva@gmail.com*

**Palavras chave:** Mutagenicidade, cromo, ensaio cometa, micronúcleos, tilápia.

O cromo é um metal de transição com três estados de oxidação: +2, +3 e +6, formando diversos compostos coloridos. O cromo trivalente é essencial na nutrição humana, com atuação no metabolismo da glicose, mas o cromo hexavalente é a forma menos estável e mais biologicamente reativa, altamente tóxica, genotóxica e carcinogênica. O aumento dos níveis de Cr<sup>+6</sup> exerce um estresse significativo para o ambiente e representa um risco à saúde humana, tornando imperativa a mensuração de potenciais riscos de ambientes poluídos por cromo. O objetivo do presente estudo foi determinar os efeitos genotóxicos do cromo hexavalente sobre eritrócitos da tilápia *Oreochromis niloticus*. Antes do experimento, os peixes foram aclimatados sob condições de laboratório por 30 dias: um peixe em cada aquário de 30L, com água declorinada, em aeração constante, fotoperíodo de 12h e 1/3 do volume de água trocado a cada 48h. Sete espécimes de *O. niloticus* foram usados primeiramente como controle negativo e posteriormente expostos ao dicromato de potássio 12 mg/L por via hídrica. Antes da exposição (para o controle negativo) e após cada tempo de exposição (24 e 48 horas) foram coletadas amostras de sangue da veia caudal para serem usadas no ensaio cometa e teste do micronúcleo. Os Dados foram testados quanto à normalidade de distribuição e homogeneidade das variâncias. O teste de Lilliefors revelou desvio significativo da normalidade e o teste de Cochran demonstrou heterocedasticidade. Então, uma análise de variância não paramétrica (Kruskal-Wallis) foi aplicada para a detecção de diferenças ao nível de significância de 0,05. As diferenças entre grupos foram comparadas por meio do Método de Student-Newman-Keuls (SNK). As análises foram realizadas com o Pacote Estatístico BioEstat 5.0 (Ayres et al., 2007) e GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). O resultados dos bioensaios mostraram que o dicromato de potássio 12 mg/L foi significativamente genotóxico e mutagênico ( $P[Kruskal-Wallis] < 0,05$ ). Entretanto, no presente experimento, o número de eritrócitos com alterações morfológicas nucleares nos grupos expostos não foi estatisticamente diferente do observado no grupo controle. *Oreochromis niloticus* demonstrou ser muito sensível ao potencial genotóxico do cromo, com o ensaio cometa mostrando resultados mais significativos que o teste do micronúcleo. Além disso, foi possível observar danos ao DNA associados com o período de exposição.

## Avaliação do potencial tóxico, citotóxico e genotóxico do óleo essencial da espécie *Eugenia brejoensis* Mazine utilizando o sistema-teste *Allium cepa* L.

Siqueira, EA<sup>1</sup>; Araújo, SS<sup>1</sup>; Silva, AG<sup>2</sup>; Silva, MV<sup>3</sup>; Brasileiro-Vidal, AC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Departamento de Genética, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Instituto Nacional do Semiárido/Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação – INSA/MCTI, Recife, PE; <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica/Centro de Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE

*brasileirovidal.ac@gmail.com*

**Palavras-chave:** *Allium cepa* L., Toxicidade, Genotoxicidade, *Eugenia brejoensis*, Óleo essencial.

*Eugenia brejoensis* Mazine é uma planta de hábito arbustivo ou arbóreo, endêmica do estado de Pernambuco, sendo encontrada em florestas de altitude, denominadas de “Brejos de Altitude”, localizados na região semiárida. As folhas da espécie são utilizadas pela população local como cicatrizante e seu óleo essencial tem como componentes majoritários o  $\delta$ -cadineno, óxido de cariofileno e o (E)-cariofileno. Estes apresentam atividade antimicrobiana e larvicida (contra o 4º instar do mosquito *Aedes aegypti*). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico do óleo essencial da espécie *E. brejoensis*, em diferentes concentrações, usando o sistema teste *Allium cepa* L. (cebola). Para a realização dos experimentos, sementes de *A. cepa* foram germinadas em água ultrapura e, em seguida, transferidas as diferentes concentrações do óleo essencial: 0,5; 0,75; 1,0  $\mu\text{L}/\text{mL}$  por um período de 24 h. Foram utilizados como controles positivos o Metilmetano sulfonato (MMS,  $4 \cdot 10^{-4}$  Mv) e o herbicida Trifluralina (0,84 ppm) e, como controle negativo, a água ultrapura. Em seguida, as raízes foram fixadas e coradas com reativo de Schiff. A análise estatística foi realizada mediante teste de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de significância. Para análise da toxicidade, foram comparadas as médias do comprimento das raízes e para a avaliação do índice mitótico e de aberrações celulares foram analisadas 2.000 células meristemáticas por tratamento. As concentrações 0,5; 0,75; 1,0  $\mu\text{L}/\text{mL}$  apresentaram atividades tóxicas significativas em relação ao controle negativo. No entanto, nenhuma concentração apresentou atividade citotóxica e genotóxica. Apenas a concentração de 1,0  $\mu\text{L}/\text{mL}$  apresentou atividade mutagênica uma vez que foi verificada a presença significativa de micronúcleos. Em virtude dos resultados, podemos inferir que o uso do óleo essencial de *E. brejoensis* como medicinal, deve ser feito com cautela, pois as concentrações analisadas podem ocasionar efeitos adversos.

Suporte Financeiro: PIBITI/CNPq-UFPE.

## Uso do sistema-teste *Allium cepa* para avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do extrato foliar de *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.)

Malta, FQ<sup>1</sup>; Siqueira, EA<sup>1</sup>; Araújo, SS<sup>1</sup>; Melo, MS<sup>2</sup>; Silva, MV<sup>2</sup>; Brasileiro-Vidal, AC<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Departamento de Genética, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica/Centro de Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE

*brasileirovidal.ac@gmail.com*

**Palavras-chave:** Planta medicinal, Caesalpinia, Pau-ferro, *Allium cepa* L., Extrato ciclohexânico

Da família das leguminosas (Fabaceae), *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.), conhecida como jucá ou pau-ferro, é uma árvore abundante no Nordeste brasileiro, especialmente na caatinga dos estados do Ceará e Pernambuco, muito comum em ambientes urbanos como ornamental. Suas folhas e casca são utilizadas popularmente no tratamento de feridas, contusões, no combate de afecções respiratórias, diarreia e anemia. Em virtude disso, o objetivo deste trabalho foi analisar o potencial citotóxico e genotóxico do extrato ciclohexânico foliar de *L. ferrea* em diferentes concentrações, utilizando o sistema teste *Allium cepa* L. (cebola). Sementes de *A. cepa* foram germinadas em água destilada e, em seguida, transferidas o extrato nas seguintes concentrações: 0,125 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL, por um período de exposição de 24h. Como controles positivos, foram utilizados o Metilmetano Sulfonato (MMS,  $4 \cdot 10^{-4}$  Mv) e o herbicida Trifluralina (0,84 ppm) e como controle negativo, água destilada. Após o período de exposição, as raízes foram fixadas em Carnoy, hidrolisadas em HCL (1N) e coradas com reativo de Schiff. Foram analisadas 2.000 células meristemáticas por tratamento. A análise estatística foi realizada mediante teste de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de significância. Foram considerados como parâmetros a variação do comprimento médio das raízes (toxicidade), índice mitótico (citotoxicidade) e a frequência de alterações cromossômicas (genotoxicidade). Na avaliação do índice mitótico não houve diferença significativa em nenhuma das concentrações, no entanto, a menor concentração estudada (0,124 mg/mL) apresentou toxicidade significativa. Em relação à genotoxicidade, nenhuma das concentrações apresentou alterações cromossômicas significativas. Dessa forma, o extrato ciclohexânico foliar de *L. ferrea* além de apresentar potencial medicinal, não apresentou efeitos adversos para a maioria das concentrações testadas utilizando o sistema-teste *A. cepa*. Contudo, análises adicionais com outros organismos testes deverão ser realizadas.

Suporte financeiro: CNPq

## ANÁLISE GENOTÓXICA NA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL DA BARRAGEM DA ÁGUA FRIA II USANDO TESTE DE MICRONÚCLEO-*ALLIUM CEPA*

DUTRA, R T<sup>1</sup>; VALLE, A B C S<sup>1</sup>; SANTOS, P S<sup>1</sup>; OURIVES, O S<sup>1</sup>; CRUZ, J O MAFFEI, E M D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB.

rayanadutra@hotmail.com

**Palavras-chave:** Teste de micronúcleo, mutagênese, biomonitoramento, genotoxicidade, Citogenética

O teste de micronúcleo é um teste citogenético, que investiga células previamente expostas a agentes químicos, tendo por finalidade a detecção de aberrações cromossômicas. Micronúcleo (MN) é um núcleo adicional de uma célula, formado por cromossomos ou fragmento de cromossomos que não são incluídos no núcleo principal durante a mitose, facilmente detectado em células interfásicas; sua formação se deve a alterações estruturais cromossômicas espontâneas ou decorrentes de fatores ambientais ou, ainda, a falhas no fuso mitótico, sendo, portanto, excluído do novo núcleo formado na telófase. O sistema de teste de micronúcleo em raízes da espécie *Allium cepa*, pode ser visto como um dos mais significativos estudos de biomonitoramento e mutagênicidade de plantas, por sua sensibilidade e exatidão, e, porque as raízes de tal espécie apresentam um processo de divisão celular similar aos do homem. A barragem da Água Fria II está localizada no município de Barra do Choça e é alimentada pelos rios Monos e Água Fria, responsável pelo abastecimento das cidades de Vitória da Conquista e Barra do Choça. A principal atividade econômica do município de Barra do Choça é a agricultura, observa-se no local a retirada toda mata nativa, inclusive a mata ciliar, que pode facilitar a contaminação dos recursos hídricos por fertilizantes e agrotóxicos. Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial mutagênico da água da barragem Água Fria II através do teste de micronúcleo, buscando identificar alterações cromossômicas estruturais em células meristemáticas de *A. cepa*. A coleta da água foi realizada em abril de 2014, armazenado em garrafa de plástico e levada para o laboratório de Citogenética da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Foram utilizados 5 bulbos de *A. cepa* para cada experimento, controle positivo (água mineral e K-Othrine 3%), controle negativo (água mineral), e amostras da barragem Água Fria II. Para amontagem das lâminas foram coletados meristemas em crescimento ativo, fixados em fixador de Carnoy e armazenadas na geladeira; posteriormente foram coradas com orceína acética a 1%, e analisados microscopicamente. Foram analisadas em média 1000 células para cada tratamento, no controle negativo a média foi de 2 MN, o controle positivo apresentou em média 30 MN e anormalidades como pontes na anáfase e brotos; os meristemas tratados com a água da barragem apresentaram uma média de 18 micronúcleos, além de células com DNA condensado. Os resultados encontrados no tratamento da água da barragem, encontram-se acima do aceito descrito na literatura, portanto esta deve passar por análises mais rigorosas de qualidade por se tratar de fonte de abastecimento, além do seu papel biológico para fauna e flora.

Suporte financeiro: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.