



#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

# ANÁLISE GENOTÓXICA DO Tamarindus indica L. (FABACEAE Lindl.) no Allium cepa (cebola)

Trabalho apresentado como projeto de monografia da disciplina de Trabalho de conclusão de curso - TCC do curso de enfermagem.

Acadêmico: Edir de Abreu

Orientador: Prof. Dra. Fabiana Aparecida Caldarte

Rodrigues

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Ferreira de Morais.





#### CURSO DE ENFERMAGEM

### **SUMÁRIO**

ntrodução
Problema
Hipóteses
ustificativa
Objetivos
Aetodologia
Tundamentação teórica
Cronograma
Referências bibliográficas





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

### 1. INTRODUÇÃO

A utilização popular de plantas medicinais é uma prática milenar que ainda está presente nos dias atuais, porém estas podem apresentar efeitos tóxicos. Lorenzi et al.,(2002). Apesar de milenar e difundido em todo o mundo e ter-se comprovação científica da eficácia do uso de muitas plantas no controle de diversas doenças poucos são os estudos ainda, maioria delas não foi suficientemente estudadas, no que se refere ao seu potencial citotóxico/mutagênico. (BAGANTINI, 2007).

Pesquisas e estudos têm mostrado que muitas substâncias extraídas de plantas medicinais podem causar danos no material genético, caracterizando-se em mutação (adição, substituição ou deleção de base no DNA ). (FONSECA e PEREIRA s/d)

A citotoxicidade e a genotoxicidade de substâncias tem sido verificada por uma gama de bioensaios sensíveis que expressam resultados satisfatórios conforme o agente que são expostos. (SOUZA,2005). *Allium cepa* (cebola comum) é um dos vegetais mais usados em bioteste para análise de genotoxicidade (FISKESJÖ, 1993).

Tamarindus indica é uma árvore perene pertencente a família Fabaceae nativa do leste da África e naturalizada no brasil. Os seres humanos a utilizam em diversas áreas do conhecimento humano inclusive na área medicinal. As sementes de Tamarindus indica são usadas pela medicina popular no controle do diabetes no entanto em nossa busca por texto no google acadêmico não encontramos nenhum trabalho que analisassem seus efeitos genotóxicos. Este trabalho tem como objetivo analisar os efeitos das sementes de Tamarindus indica no sistema vegetal Allium cepa o qual é aceito como um sistema ideal para este tipo de estudo.





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

### 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 2.1 Genotoxicidade

As plantas produzem grande quantidade de substâncias, dentre estas muitas são tóxicas cuja finalidade é de lhes conferir proteção contra vírus, fungos, bactérias e predadores. Apesar de estudadas e caracterizadas são poucos os estudos sobre seus efeitos citotóxicos e genotóxicos. Pesquisas e estudos têm mostrado que muitas substâncias extraídas de plantas medicinais podem causar danos no material genético, caracterizandose em mutação como, por exemplo: adição, substituição ou deleção de base no DNA. (FONSECA e PEREIRA s/d)

A Genética Toxicológica tem por objetivo detectar e entender a ação de determinadas substâncias denominadas genotoxicas sobre o organismo, com especificidade para ácidos nucléicos, especialmente DNA. (FONSECA e PEREIRA s/d). Para Vogel (1989), o termo genotóxico se refere às alterações letais e/ou hereditárias, que são transmitidas, tanto pelas células somáticas, como pelas germinativas.

A presença de substâncias mutagênicas nas espécies vegetais que causam alterações cromossômicas podem ser detectadas durante o ciclo celular de uma espécie. (BAGATINI, et al,2007). O uso de materiais botânicos em genotoxicologia tem aumentado e está fortalecido na comunidade científica e autoridade pública. O interesse em sistema-teste utilizando plantas, pois aumenta o conhecimento sobre genotoxicidade em eucarioto. (FISKESJÖ, 1993). A citotoxicidade e a genotoxicidade de substâncias tem sido verificada por uma gama de bioensaios sensíveis que expressam resultados satisfatórios conforme o agente que são expostos. (SOUZA,2005). *Allium cepa* (cebola comum) é um dos vegetais mais usados em bioteste para análise de genotoxicidade (FISKESJÖ, 1993).

O método de avaliação citogenética em *A.cepa* tem o aval do Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e do Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) para monitoramento da genotoxicidade de contaminantes ambientais.





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

(KRUGER, 2009)

Os efeitos das infusões de plantas medicinais sobre o ciclo celular de Allium cepa têm sido relatados por vários autores (Vicentini et al., 2001; Camparoto et al., 2002; Teixeira et al., 2003; Knoll et al., 2006; Fachinetto et al., 2007), os quais mostraram que os principais efeitos que ocorrem são mutagenicidade e anti-mutagenicidade, bem como aumento e diminuição da proliferação celular de pontas de raízes tratadas com diferentes espécies de plantas medicinais. A análise de alterações cromossômicas serve como teste de mutagenicidade e é um dos poucos métodos diretos para mensurar danos em sistemas expostos a mutagênicos ou carcinogênicos potenciais. Para possibilitar a avaliação dos efeitos ou danos que agentes mutagênicos podem causar, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, objetivando identifi car os efeitos tóxicos e alterações ocorridas ao longo de um ciclo celular, e o teste de Allium cepa tem sido amplamente empregado com esse propósito (Silva et al., 2003). O índice mitótico e índice de replicação são usados como indicadores de proliferação adequada das células (Gadano et al., 2002), o que pode ser medido através do sistema teste vegetal de *Allium cepa*. (BAGANTINI, 2007)

Bioensaios com *A. cepa*, após a exposição dos bulbos de cebola à solução teste por um determinado período é possível avaliar tanto efeito citotóxico (diminuição do crescimento das raízes e índice mitótico) quanto efeitos genotóxicos, como micronúcleo e anomalias na anáfase-telófase (KRUGER, 2009). Segundo Vicentini et al. (2001) apud. BAGANTINI (2007) o sistema de teste de *A. cepa* tem boa aceitação para o estudo de efeitos de citotoxicidade de plantas medicinais, porque as suas raízes ficam em contato direto com a substância testada, permitindo a avaliação de concentrações diferentes. As alterações cromossômicas e as da divisão das células meristemáticas da raiz de cebola são frequentemente usados para alertar a população sobre o consumo do produto.

Bagantini (2007) concluiu num estudo intitulado: "Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais", que o sistema teste vegetal de *Allium cepa* é o bioindicador ideal para o primeiro *screening* da genotoxicidade de infusões de plantas medicinais, devido ao seu baixo custo,





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

confiabilidade e concordância com outros testes de genotoxicidade, auxiliando os estudos de prevenção de danos à saúde humana.

#### 2.2 Uso de plantas medicinais

Plantas medicinais são plantas usadas com fins terapêuticos; usa-se uma ou várias de suas partes sendo que cada parte possui propriedades específicas. São diversas as formas de preparo, chás, pomadas, inalação etc., Enfatizam-se que há casos que a ação terapêutica ou tóxica pode depender do modo de utilização. (CASTRO, 2006).

Sabe-se que o uso de plantas com finalidades terapêuticas é uma prática milenar historicamente comprovada. Segundo Lorenzi et al.(2002) mesmo plantas de uso consagrado no meio popular pode apresentar propriedades tóxica por isso deve-se ter muito cuidado nas dosagens. Também se recomenda atentar se seus efeitos são cumulativos, portanto o conceito de que as plantas são produtos naturais sem risco à saúde deve ser reavaliado. As plantas medicinais são utilizadas mundialmente para o tratamento de doenças, e a maioria delas não foi suficientemente estudadas, no que se refere ao seu potencial citotóxico/mutagênico. (BAGANTINI, 2007).

#### 2.3 Família fabaceae

A família fabaceae compreende vegetais do tipo ervas, arbusto árvores ou lianas com ou sem gavinha. Apresentam alto nível metabólico de nitrogênio e aminoácidos incomuns, presença de *Rhizobium*, (nódulos radiculares contendo bactérias fixadoras de nitrogênio) geralmente há produção de taninos, frequente produção de alcaloide e até mesmo compostos cianogênicos. (JUDD, et al 2009) *Tamarindus* é um dos muitos gêneros desta família. Segundo Lewis (s/d) este gênero apresenta apenas uma espécie no Brasil o *Tamarindus indica* naturalizada nas quatro regiões brasileiras.





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

Dentre mais de 500 obras consultadas, incluindo monografia de graduação e de especialização; dissertação de mestrado; tese de doutoramento; etc. A família Fabaceae aparece em maior número de obras citadas dentre 20 famílias botânicas (RIEDER, 2012). Em outro estudo sobre plantas utilizadas por comunidade da Bacia do Alto Paraguai a família Fabaceae também apresentou o maior número de uso como hipoglicemiante (RIEDER, 2012).

#### 2.4 Tamarindus indica

Tamarindus indica, nativa do leste da África e normalmente cultivada em uma série de áreas tropical e subtropical em todo mundo. Comumente conhecida como tamarindo, é uma árvore perene, com tronco robusto, com uma copa ampla e ramos dispostos em arco, folhas compostas com folíolos elíptico e oval que normalmente fecham a noite, flores amarelas com cachos caídos e vagem marrom quando madura, possui polpa agridoce comestível que tem uma variedade de uso culinário, como molhos, sorvetes, geleias, xaropes e bebidas. Ele é um ingrediente no molho inglês. Também possui utilidade medicinal

http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=280489&isprofile=1&basic=Tamarindus%20indica 26/11/2013 Segundo Ribeiro (2013) é uma árvore frutífera e bastante decorativa a qual pode chegar até 25 metros de altura, seu fruto é uma vagem cujo comprimento varia de 5 a 15 centímetros de comprimento, com tegumento pardo-escuro, lenhoso e quebradiço contendo 3 a 8 sementes envolvidas por uma polpa parda e ácida.

A fruta de *Tamarindus indica* L. se possui aplicação na medicina popular e praticamente todas as suas partes apresentam uso terapêutico em humanos dentre estes laxante, digestivo e terapia do diabetes. Gurjão, (2006) apud. Ribeiro (20013)

As sementes de *Tamarindus indica* tem várias utilidades, destacando-se o uso industrial têxtil. Este pó cru ou torrado e desengordurado também é utilizado para o isolamento de proteínas apresentando um rendimento de (38,3%) para o pó cru e de





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

(33,3%) para o pó torrado. As sementes também possuem alto teor de ácido glutâmico (18-5%), ácido aspárticos (11,6%), glicina (9,1%), leucina, (8-2%). Os percentuais de aminoácidos hidrofóbicos (alanina, valina, leucina, isoleucina e fenilalanina) hidrofílicos (lisina, ácido aspártico, histidina, ácido glutâmico, e arginina) 28,2 e 42,3% respectivamente. (BHATTACHARYA et. al 1994 apud RIBEIRO, 2013).

O pó das sementes também é utilizado na alimentação de porcos e na alimentação humana no preparo de pães, biscoitos e bebidas, também é utilizado como base na indústria de cosmético e indústria farmacêutica.

No que diz respeito o uso medicinal o pó da semente de *Tamarindus indica* também é utilizado como um valioso recurso no tratamento da diarreia, disenteria, como curativo no caso de reumatismo e também na terapia do diabetes.

#### 2.5 Diabetes

"O diabetes é uma síndrome ou doença crônica, auto-imune associado a distúrbio metabólicos dos carboidratos, lipídios e proteínas instalando-se também desequilíbrio eletrolítico". (RIEDER E GUARIN,2012)

O diabetes é considerada segundo a Organização Mundial de Saúde – OMS uma das doenças importantes da humanidade dado o número de pessoas acometidas que segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes – SBD em 2002 no mundo havia 173 milhões de diabéticos e a projeção para 2030 é de 300 milhões. (BORGES 20008).

Para Rieder e Guarim (2012) o diabetes é um problema crescente de saúde pública global e para a crescente eficácia do seu tratamento existem pessoas, política de governo e instituições tanto pública quanto privada comprometida com o estudo desta síndrome.

Segundo *Barnett e Krall (2005) apud* Rieder e Guarim 2012 afirmam que a primeira citação sobre diabetes data de 150 a.c no papiro do médico egípcio EBERS, contudo a poliúria (aumento na produção de urina) aparece descrita também no Egito há





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

3000 anos. O termo "diabetes" para descrever a síndrome é de autoria de Galeno e Arateus "a idéia era então caracterizar a anomalia como uma entrada e saída de água no e do organismo analogicamente como se fosse um sifão, haja vista que em grego o termo diabetes significa sifão.

#### 3. **JUSTIFICATIVA**

O uso de plantas com fins medicinais é uma prática milenar, e mesmo com o advento da tecnologia moderna na industrialização de fármacos sintéticos continuam presente na atualidade, sabe-se que muitas plantas com efeitos farmacológicos têm ou pode ter efeito genotóxico. O *Tamarindus indica* é usado com finalidade medicinal com base no conhecimento popular no controle de diversas doenças inclusive do diabetes. Sabe-se que o uso tradicional de plantas medicinais antecede a comprovação científica, sabe-se também que o estudo genotóxico é essencial para a confirmação do uso de uma espécie vegetal. Numa busca no google acadêmico com diversos critérios não encontrou-se nenhum estudo de genotoxicidade do *Tamarindus indica*. O conhecimento sobre genotoxicidade pode prevenir problemas de saúde nesta geração e para gerações futuras. Neste sentido este estudo torna-se de relevância na produção do conhecimento do *Tamarindus indica* e seu uso seguro em seres humanos.

#### 4. OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivo geral





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

Analisar a influencia de extrato de *Tamarindus indica L.* (FABACEAE) como GENOTÓXICO em *Allium cepa*.

#### 4.2 Objetivos específicos

Verificar na literatura científica o uso do extrato de *Tamarindus indica* no controle do diabetes.

Realizar teste de genotoxidade de extrato de semente de *Tamarindus indica* em *Allium cepa* (cebola).

#### 5. METODOLOGIA

#### 5.1 Problema

Existem estudos sobre a genotoxicidade das sementes de Tamarindus indica?

#### 5.2 Hipóteses

H0 O extrato das sementes de *Tamarindus indica* é genotóxico para Allium cepa.

H1 O extrato das sementes de *Tamarindus indica* não é genotóxico para Allium cepa.

#### 5.3 Área de estudo

Este estudo será realizado na cidade de Cáceres, inserida no Pantanal matogrossense. Segundo Ferreira (1997), o Município de Cáceres está localizado no Centro Sul de Mato Grosso, na Mesorregião -130, Microrregião-535, Alto Pantanal, situada entre as coordenadas 16° 11' 42" latitude sul, 57° 40' 51" longitude oeste Gr., possuindo uma





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

extensão territorial de 24.965,94 Km2 distante aproximadamente 205Km da Capital Cuiabá pela Rodovia BR-364, na região noroeste do Pantanal Matogrossense. Faz limites com os Municípios de Mirassol D'Oeste, Barra do Bugres, Nossa Senhora do Livramento, Poconé, Porto Esperidião, Lambari D'Oeste, Glória D'Oeste e República da Bolívia.

#### 5.4 Estudo da genotoxicidade

O estudo para testar a genotoxicidade do *Tamarindus indica* no *Allium cepa* usar-se-á a dose usada pelo conhecimento popular para o controle do diabetes. As pessoas que colaborarão como informantes já foram previamente contatadas e assinarão o termo de aceite o qual será encaminhado junto ao processo para apreciação do conselho de ética da instituição.

Para o estudo da genotoxicidade do *Tamarindus indica* serão colocados bulbos de *Allium cepa* em recipientes (vidro) com água de forma que a parte radicular fique coberta pela água durante uma semana para desenvolver raízes. Serão escolhidos dois bulbos (*Allium cepa*) que desenvolverem no mínimo três raízes e de cada bulbo coletada uma raiz para fixação na lâmina. Um bulbo será colocado por 24h (vinte e quatro horas) no cha de sementes de *Tamarindus indica* na concentração usada para tratamento, a outra planta será colocada pelo mesmo período no chá com concentração 10x (dez vezes mais concentrada) do uso para o tratamento do diabetes. Serão coletadas duas raízes de todos os bulbos para preparação das lâminas e as plantas voltam a ser colocadas na água destiladas por 24h para recuperação, após este período as raízes serão coletadas para preparação das lâminas.

A preparação das lâminas seguirá o protocolo de **Guerra e Souza**, **2002** (modificado) com exceção do uso da **Hidroxiquinoleina**.





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

Em cada experimento será contado 2000 (duas mil) células em fase de divisão celular e observadas no microscópio óptico para análise do índice mitótico e possíveis alterações gênicas.

A verificação na literatura científica sobre a comprovação do uso de Tamarindus indica no controle do diabetes será feito uma busca no buscador "Google Acadêmico" com os seguintes critérios: notítulo: "nome científico" "diabetes" (modalidade-3) notítulo: "nome científico" "diabetes" "abstract" (modalidade-4) tudonotítulo: "nome científico" "diabetes" (modalidade-5) "Nome científico "Diabetes" "abstract" (modalidade-6). Os textos encontrados serão analisados quanto a existências de vínculo (será considerado com vínculo os textos que afirmar que a planta é usada para tratar o diabetes os textos que não apresentar esta relação serão descartados). Havendo vínculo, os textos serão discriminados em vínculo direto e indireto. Serão considerados como vínculos indiretos os textos que apenas afirma que o Tamarindus indica é usada para o controle do diabetes. Serão considerados vínculos diretos os textos cujo estudo foi realizado com a finalidade de comprovar o uso no tratamento do diabetes (? E os textos que comprovam o uso nas complicações secundárias do diabetes.





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

#### 6. Cronograma

013	014					
Atividades						
	В	usca de textos no google acadêmico				
	E	laboração do projeto				
	A	prender as técnicas de preparação de				
lâminas	S					
	R	ealizar os experimentos Allium cepa/T.				
сера						
	R	evisão bibliográfica				
	F	ixação do material nas lâminas				
	A	nálise das lâminas – Contagem das células				
	A	nálise e descrição dos resultados				
	F	inalização e apresentação da monografia				

#### 7. Referências bibliográficas

BAGATINI, Margarete Dulce; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da; TEDESCO, Solange Bosio. Uso do sistema teste de Allium cepa como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia.





#### **CURSO DE ENFERMAGEM**

CASTRO, Deyse.L.L Aspecto Toxicológico das Plantas Medicinais Utilizadas no Brasil: um enfoque qualitativo no Distrito Federal. Brasília, março de 2006.

FEREIRA, João Carlos Vicente. Mato Grosso Político e Contemporâneo. Várzea Grande-MT: Editora Memória Brasileira, 1995.

FISKEJÖ, G. The Allium Test – A potencial standard for the assessment of Environmental Toxicity. In: Environmental Toxicology and Risk Assessment 2<sup>nd</sup> Volume, ASTM STP 1216, J.W. Gorsuch, F.J. Dwyer, C.G. Ingersoll, and T.W. La Point, Eds. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1993

JUDD, Walter S.; CHRISTOPHER, S. Campbell; ELIZABETH A. Kellogg; PETER, F. Stevens; MICHAEL J. Donoghue. Sistemática Vegetal – um enfoque filogenético. Porto Alegre: Artmed,2009.

KRUNGER, Rosângela Angelise. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de Agrotóxicos Utilizado Agricultura Utilizando Bioensaios com** *Allium cepa*. Centro Universitário Feevale – progrma de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado em Qualidade Ambiental, Novo Hmburgo, 2009.

LEWIS, G.P. *Tamarindus* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB23200">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB23200</a>>. Acesso em: 28 Nov. 2013

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas, exóticas e cultivadas.** SP: Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2002, 396p.

RIBEIRO, Joycellaine Aline do Nascimento Campos. Ação sacietogênica de Um inibidor de Tripsina da Semente de Tamarindo (*Tamarindus indica* L.). Natal, RN, 2013.

SOUZA, Sérgio Alessandro Machado. Biotestes na Avaliação da Fitotoxicidade de Extratos Aquosos de Plantas Medicinais Nativas do Rio Grande do Sul. Universidade Federal de Pelotas Campus Universitário. Pelotas – RS – Brasil 2005.

VOGEL, E.W. & SZZAKMARY. Basic Principles nad Evaluation of Results of Assays Measuring Genotoxic Damage in Somatic Cells of Drosophila. 5th ICEMS Clevland, 1989.





CURSO DE ENFERMAGEM