



**FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE**

**ELISIANE FRITSCH**

**ANÁLISE ANTIMUTAGÊNICA DO LÁTEX DA  
*Euphorbia tirucalli* EM TESTE DE *Allium cepa***

**ARIQUEMES-RO**

**2012**

**Elisiane Fritsch**

**ANÁLISE ANTIMUTAGÊNICA DO LÁTEX DA  
*Euphorbia tirucalli* EM TESTE DE *Allium cepa***

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial a obtenção do Grau de Bacharel em: Farmácia.

Orientador: Profº. Esp. Leandro José Ramos

Ariquemes – RO

2012

**Ficha Catalográfica elaborada pela bibliotecária Elaine de Oliveira Machado CRB11/848,  
na Biblioteca “Júlio Bordignon”, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA em  
Ariquemes/RO.**

615.526

T839a

FRITSCH, Elisiane

Análise antimutagênica do látex da *Euphorbia tirucalli* em teste de *Allium cepa*. Elisiane Fritsch – Ariquemes: [s.n], 2012.

38 f.il .; 30cm.

Monografia de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) –  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA.

Orientador: Prof.º Esp. Leandro José Ramos

1. *Euphorbia tirucalli* 2. Antimutagênica 3. *Allium cepa* 4. Micronúcleos 5.  
Mutações. I. FRITSCH, Elisiane. II. Faculdade de Educação e Meio Ambiente  
– FAEMA. III. Análise antimutagênica do látex da *Euphorbia tirucalli* em  
teste de *Allium cepa*.

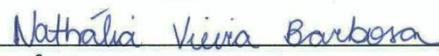
Elisiane Fritsch

**ANÁLISE ANTIMUTAGÊNICA DO LÁTEX DA *Euphorbia*  
*tirucalli* EM TESTE DE *Allium cepa***

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente como requisito parcial à obtenção do Grau de Bacharel em Farmácia.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

  
Orientador: Prof<sup>o</sup>. Esp. Leandro José Ramos  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

  
Prof<sup>a</sup>. Ms. Nathália Vieira Barbosa  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

  
Prof<sup>a</sup>. Ms. Filomena Maria Minetto Brondani  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

Ariquemes, 29 de junho de 2012.

Aos meus pais, esposo e familiares, por acreditarem  
em mim, pelo amor infinito e pela confiança  
que sempre me dedicaram.

*"Quem sabe concentrar-se numa coisa e insistir nela como único objetivo, obtém, ao fim e ao cabo, a capacidade de fazer qualquer coisa".*

*Mahatma Gandhi*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus! Por mostrar-me que sou protegida, guiada e iluminada pela sua presença divina, em cada momento de minha vida e porque o Senhor é o meu pastor e nada me faltará.

Ao meu esposo Tiago pelo amor e carinho, por compreender os momentos em que eu não pude estar presente ao seu lado, pelo incentivo e por sempre ter acreditado em minha capacidade.

Aos meus amados pais Elceno e Lurdes, minhas queridas irmãs Ezenara e Elenice, meu admirável irmão Laerte, meus cunhados Adriano e Rogério, minha querida cunhada Rosângela, meus amáveis sobrinhos e sobrinhas, pessoas muito especiais para mim, que nunca hesitaram em ajudar-me nas horas que eu mais precisei, pelos incentivos a lutar pelo meu ideal, pelo apoio espiritual que necessitei em vários momentos de minha vida e principalmente, por me ensinarem o importante valor de viver em uma família unida.

A minha sogra Clarice, meu sogro Aparecido e minha cunhada Fernanda, pessoas queridas e importantes em minha vida, que sempre me deram apoio e condições para que essa vitória que alcanço hoje se concretizasse.

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup>. Esp. Leandro José Ramos pela paciência, compreensão, dedicação, constantes incentivos e orientação deste trabalho.

Ao Prof<sup>o</sup>. Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti, pelo auxílio, atenção e esclarecimentos prestados durante a execução deste trabalho.

As minhas grandes amigas, Aline, Simone e Adriana que estiveram ao meu lado em todas as etapas deste trabalho, me fazendo acreditar que conseguiria chegar ao término com sucesso.

A todos os meus professores do curso de Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, que através de seus ensinamentos e compreensão, proporcionaram-me a oportunidade de realizar este sonho.

Aos técnicos de Laboratório Allan, Anderson, Itamar, Rigoberto e Weslei, pela disposição em auxiliar, não medindo esforços para que os dados fossem coletados com o rigor necessário.

A banca examinadora, composta pela Prof.<sup>a</sup> Ms. Nathália Vieira Barbosa e Prof.<sup>a</sup> Ms. Filomena Maria Minetto Brondani, pela disposição em avaliar este trabalho.  
A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A planta *Euphorbia tirucalli*, conhecida popularmente como avelóz, possui frequente utilização na terapêutica tradicional e popular por acreditar-se que a mesma apresenta atividade antitumoral e ação terapêutica para diversas doenças graves através do consumo de seu látex diluído. O teste de micronúcleos (MN) em *Allium cepa* vem sendo muito utilizado para análise de mutagenicidade em plantas medicinais, por ser simples, com alta sensibilidade, rapidez na análise e por possuir sistema celular eucariótico, cuja fisiologia é a mais próxima das células animais. O presente trabalho objetivou-se em analisar a atividade antimutagênica da planta *E. tirucalli* através do teste de micronúcleo em *A. cepa*. Foram postos a germinar 140 bulbos em sete concentrações diferentes sendo: 5 $\mu$ L, 10 $\mu$ L, 15 $\mu$ L, 20 $\mu$ L e 25 $\mu$ L do látex em solução de CuSO<sub>4</sub> 25 mg/L, um controle negativo em água mineral pura e por fim um controle positivo com solução de CuSO<sub>4</sub> 25 mg/L (sem *E. tirucalli*). Após a germinação dos meristemas, preparou-se 20 lâminas para cada grupo, em seguida, as mesmas foram analisadas em microscópio óptico, com objetivas de 40x e ocular de 10x, tendo um aumento de 400x, sendo que os MN foram contabilizados a cada 1000 células por lâmina. Após a análise das lâminas e levantamento da média de MN nos grupos, foi realizada uma análise estatística do mesmo onde se observou significância estatística apenas na concentração de 25  $\mu$ L ( $p < 0,05$ ) quando comparada ao controle positivo, demonstrando que a mesma concentração apresenta potencial antimutagênico em células vegetais.

**Palavras-chave:** *Euphorbia tirucalli*, Antimutagênico, *Allium cepa*, Micronúcleo, Mutação.

## ABSTRACT

The plant *Euphorbia tirucalli*, popularly known as avelóz, has frequently been used in traditional therapies and folk remedies for its perceived anti-tumor qualities and therapeutic benefits for several serious diseases. The excreted latex solution is typically consumed internally or used externally. The micronucleus test (MN) in *A. cepa* strain has been widely used for analysis of mutagenicity in medicinal plants, because it is simple to prepare, is a high sensitivity sample, and has a fast analysis due to its eukaryotic cellular system with physiology closer to animal cells. This study aimed to examine the antimutagenic activity in the plant *E. tirucalli* by micronucleus test in *A. cepa* strain. 140 samples were germinated in seven different concentrations of: 5 $\mu$ L, 10 $\mu$ L, 15 $\mu$ L, 20 $\mu$ L, and 25 $\mu$ L of the latex solution of CuSO<sub>4</sub> 25 mg / L, a negative control with pure mineral water and finally a positive control solution of CuSO<sub>4</sub> 25 mg / L (without *E. tirucalli*). After the germination of meristems, 20 slides were prepared for each group, then analyzed by optical microscope with a 40x objective and 10x ocular, and a 400x magnification. The MN was counted in 1000 cells per slide. After reviewing the slides and surveying the average MN groups, a statistical analysis was performed. Statistical significance was found at a concentration of 25 mL (p<0.05) compared to the positive control, demonstrating that the same concentration has antimutagenic potential in plant cells.

**Keywords:** *Euphorbia tirucalli*, Antimutagenic, *Allium cepa*, Micronuclei, Mutation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Formação de micronúcleos em células eucarióticas.....	20
Figura 2	A - Planta <i>E. tirucalli</i> , B - Extração do látex da <i>E. tirucalli</i> .....	24
Figura 3	A - Geminação de <i>A. cepa</i> no látex da <i>E. tirucalli</i> , B - Meristemas de <i>A. cepa</i> .....	26
Figura 4	A - Coleta dos meristemas de <i>A. cepa</i> , B - Banho Maria dos meristemas de <i>A. cepa</i> .....	26
Figura 5	A - Células de <i>A. cepa</i> (ocular: 10x, objetiva 10x), B - Micronúcleo em célula de <i>A. cepa</i> (ocular: 10x, objetiva 40x).....	27
Figura 6	Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de <i>A. cepa</i> , por concentrações de látex da planta <i>E. tirucalli</i> . Significativo para $p < 0.05$ * .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b><i>A. cepa</i></b>	<i>Allium cepa</i>
<b>CEME</b>	Central de Medicamentos
<b>CuSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de Cobre
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucléico
<b><i>E. tirucalli</i></b>	<i>Euphorbia tirucalli</i>
<b>FAEMA</b>	Faculdade de Educação e Meio Ambiente
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico
<b>MN</b>	Micronúcleos
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>SIDA</b>	Síndrome de Imuno Deficiência Adquirida

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
2.1 PLANTAS MEDICINAIS.....	14
2.2 <i>Euphorbia tirucalli</i> .....	15
2.2.1 Principais Componentes Presentes em <i>Euphorbia tirucalli</i> .....	17
2.2.2 Utilizações Clínicas Associadas ao Uso de <i>Euphorbia tirucalli</i> .....	17
2.2.3 Atividade Mutagênica da <i>Euphorbia tirucalli</i> .....	19
2.3 MUTAGÊNICIDADE.....	19
2.4 TESTES DE MICRONÚCLEOS EM <i>Allium cepa</i> .....	21
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>24</b>
4.1 OBTENÇÃO E PREPARO DA AMOSTRA.....	24
4.2 CONCENTRAÇÕES DOS GRUPOS CONTROLE.....	25
4.3 ANÁLISE MUTAGÊNICA.....	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>32</b>

## INTRODUÇÃO

A ciência tradicional a respeito das propriedades terapêuticas das plantas medicinais colabora para a formulação de fármacos e contribui para as práticas terapêuticas. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), plantas medicinais são utilizadas por 80% da população mundial na aplicação primária à saúde. (AVELAR, 2010).

Resultados dos estudos de pesquisa com plantas medicinais viabilizam a fabricação de medicamentos em curto tempo, menores custos e de fácil acesso à população. (LOPEZ, 2006). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os medicamentos fitoterápicos são originários de plantas medicinais, empregando-se derivados da droga vegetal, como extrato, tintura, óleo, cera, suco e outros, devendo oferecer garantia de qualidade, ação terapêutica comprovada, composição padronizada e segurança na utilização pela população. (BRASIL, 2004).

Diversas espécies de plantas tiveram seus compostos isolados na medicina alternativa, porém, ainda não tiveram suas atividades terapêuticas estudadas. Determinada quantidade desses compostos isolados foram identificados como tendo potencial mutagênico e carcinogênico, podendo causar danos ao ácido desoxirribonucléico (DNA) dentre eles, estão os flavonóides, hidrazinas, alcalóides e quinonas, no entanto, as plantas também possuem substâncias antimutagênicas, como os beta-carotenos e o ácido ascórbico. (BARBOSA; CHEN, 2010).

Nota-se que nos países em desenvolvimento, como o Brasil, a população faz uso de plantas medicinais para o tratamento de enfermidades. Entretanto deve ser priorizada a importância do monitoramento no consumo de fitoterápicos, com o propósito de informar a população a respeito da ação terapêutica dos mesmos no organismo. (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

Substâncias genotóxicas, são causadores danos ao DNA, possuem em comum propriedades químicas e físicas que admitem suas interações com os ácidos nucléicos. Devido à sua alta reatividade, podem causar defeitos hereditários por meio de mutações em células germinativas, e quando a mutação acontece em células somáticas, o resultado mais frequente é a constituição de neoplasias, podendo ser benignas ou malignas. (VARANDA, 2006).

No organismo, constantemente estão ocorrendo mutações, conhecidas como recombinações genéticas, sendo uma capacidade natural que o DNA tem de se

recombinar com outras moléculas, mas também pode ser decorrente de mutações por indução de agentes físicos e químicos. (GAMEIRO, 2005). Essas mutações podem ser identificadas de várias formas, sendo uma delas a formação de micronúcleos (MN), que são pequenos corpos contendo fragmentos de DNA, resultado de quebras cromossômicas e aparecendo no citoplasma celular por divisão mitótica, tendo em média um terço do tamanho do núcleo. (MENEGUETTI et al., 2011).

A formação de MN é o indício de genotoxicidade de um determinado agente apto a provocar mutações na fita de DNA (PEREIRA et al., 2008), tornando-se possível a avaliação desses indícios através de bioensaios, como o teste de micronúcleos em *Allium cepa* (*A. cepa*) que tem sido um dos mais rápidos e práticos na detecção do potencial genotóxico e mutagênico. (ROCHA et al., 2011).

Para análise de ocorrência de citotoxicidade de plantas medicinais, o teste de MN em *A. cepa* tem grande aceitação, devido suas raízes ficarem em contato direto com a substância a ser analisada, permitindo assim a avaliação de diferentes concentrações. (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

A *Euphorbia tirucalli* (*E. tirucalli*) é uma planta pertencente ao gênero botânico *Euphorbia* da família Euphorbiaceae. A família inclui plantas com cerca de 300 gêneros e 6000 espécies, difundida com predominância nas regiões tropicais. (AVELAR, 2010). A *E. tirucalli* é um arbusto com numerosos ramos verdes, carnosos, roliços, com raras folhas e flores. Entre suas propriedades terapêuticas estão à antiasmática, anticarcinogênica, antiespasmódicas, antibiótica, antibacteriana, antivirótica, fungicida e expectorante. (SINOKI, 2011).

Assim, perante o grande consumo da planta *E. tirucalli*, para fins medicinais pela população brasileira, e por conter poucas informações a respeito de sua toxicidade e indução mutagênica, se faz relevante avaliar seu potencial anti-mutagênico através da frequência de micronúcleos em testes *A. cepa*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Nota-se que desde a antiguidade, o homem vem observando a conduta dos instintos animais em restituir seus machucados ou aliviar suas moléstias através do uso de plantas. Este interesse fez com que houvesse a expansão dos estudos pelas propriedades medicinais das plantas. A sabedoria popular sobre a utilização das plantas medicinais colaborou expressivamente para a divulgação das suas ações terapêuticas, no entanto, uma pequena parcela de plantas foram analisadas cientificamente para o conhecimento de suas atividades biológicas, segurança e eficácia. (BARBOSA; CHEN, 2010). No Brasil, a tradição do uso popular de plantas medicinais, originou-se das culturas indígenas que foram as pioneiras na utilização da flora para fins medicinais. (VICTÓRIO; LAGE, 2008).

Apesar da utilização milenar das plantas medicinais para cura e prevenção de diversas doenças, seu uso deve ser controlado, pois algumas plantas possuem substâncias potencialmente perigosas e agressivas, podendo provocar reações adversas e efeitos tóxicos, causando assim danos à saúde. (RODRIGUES et al., 2011).

Observa-se que, em diversos grupos sociais, o conhecimento empírico sobre plantas medicinais torna-se a única alternativa terapêutica, seguindo apenas as orientações populares sobre a utilização e sua eficácia, informações estas, que foram sendo acrescentadas durante séculos. (MACEDO; OSHIWA; GUARIDO, 2007). Segundo a OMS, em média, 80% da população global nos países em desenvolvimento, devida a pobreza e ausência de acesso à medicina tradicional, recorrem a tratamentos à base de plantas para tratar de suas enfermidades, e em média, cerca de 30% de todos os fármacos acessíveis na terapêutica são provenientes de produtos naturais como as plantas, microorganismos e animais. (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada 48/2004 ANVISA, fitoterápicos são medicamentos que possuem propriedades reconhecidas de cura, prevenção, diagnóstico ou tratamento sintomático de doenças, validadas em estudos etnofarmacológicos. (BRASIL, 2004).

De acordo com a OMS, compreende-se como planta medicinal aquela nativa ou cultivada e empregada com propósito medicinal, devendo-se sua ação farmacológica a princípios ativos, sendo que qualquer planta medicinal somente é considerada medicamento quando empregada de maneira correta, deste modo, a indicação do uso como planta medicinal regularizada e inclusa na farmacopéia exige, numa condição favorável e evidências de seu princípio ativo farmacologicamente. (TAUFNER; FERRAÇO; RIBEIRO, 2006).

A OMS aconselha a ampliação de políticas ressaltando-se as condições de segurança, eficácia, qualidade, uso racional e acesso as plantas medicinais. Decorrente da ausência do conhecimento da possível existência da ação tóxica, e também de sua indicação apropriada, as plantas são muitas vezes consumidas de maneira errada, não proporcionando assim a ação esperada. (GONÇALVES; ARAÚJO, 2009).

O consumo de remédios derivados de plantas já é fato, tanto que existem algumas prefeituras de capitais que estão incorporando estes medicamentos nas dispensações nos postos de saúde, mesmo a OMS que sempre esteve contra este consumo, passou a aceitar as ervas medicinais, delegando à Central de Medicamentos (CEME) a tarefa de amparar em parceria com diversas universidades brasileiras, estudos para a ampliação do conhecimento sobre suas propriedades terapêuticas e efeitos tóxicos. (LOPEZ, 2006).

## 2.2 *Euphorbia tirucalli*

Desde os primórdios é descrito o uso de espécies da família Euphorbiaceae em tratados de filosofia e medicina na história das culturas orientais e ocidentais, como a hindu, chinesa, árabe e greco-romana. A denominação do gênero *Euphorbia* é oriunda do nome do rei grego Euphorbos, um incentivador do estudo das plantas medicinais como terapêutica para as moléstias dos habitantes de seu reino, a partir da cicatrização das feridas no corpo pela utilização do látex da planta *E. tirucalli*. (VARRICCHIO et al., 2008).

Classificação botânica da planta *E. tirucalli* conforme Avelar (2010), representada na tabela 1.

Tabela 1. Classificação botânica de *E. tirucalli*

Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Magnoliidae
Ordem	Malpighiales
Família	Euphorbiaceae
Gênero	<i>Euphorbia</i>
Espécie	<i>Euphorbia tirucalli</i>

Fonte: AVELAR (2010)

A *E. tirucalli* é considerada um arbusto, podendo atingir até 9 metros de altura quando arborizado em seu *habitat* natural, possuindo troncos verdes e cilíndricos bem ramificados, com pequenas folhas que nascem somente no começo de seu desenvolvimento e pequenas flores. Originária da África, foi trazida ao Brasil adaptando-se em regiões de clima quente de solo arenoso, especialmente no norte e nordeste do país, por onde ocorreu sua disseminação. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

Popularmente é chamada de avelóz, árvore lápis, coroa de cristo, pau-pelado, árvore-de-são-sebastião, entre outros nomes. Sua toxicidade concentra-se no látex e seu princípio ativo tóxico são as toxialbuminas. Quando ingerido o seu látex, provoca sintomas como náuseas e vômito, se for mastigada provoca irritação das mucosas, queimação na boca, língua e esôfago, já em contato direto com a pele, provoca irritação, coceira e o aparecimento de bolhas de água. (BARG, 2004).

Existem em média cerca de 70 gêneros e 1000 espécies da família Euphorbiaceae no Brasil, de um modo geral, dessas espécies se extrai o látex, (AVELAR, 2010) que possui cor branca, considerado cáustico, podendo causar irritação na pele, membranas e mucosas, inflamação na pele, conjuntivite e cegueira passageira, ardência na boca e garganta, desarranjo intestinal, e gastroenterite. (SINOKI, 2011). A população conhece o látex da *E. tirucalli* por possuir propriedades, antiescorpiônica e ofídica, além de ser utilizado como purgativo, antireumático, antiasmático, antiespasmódico, antibiótico, antibacteriano, antivirótico, expectorante, fungicida, antisifílico, tendo significantes resultados no tratamento de

carcinomas e epitelomas benignos, e cauterizante de verrugas. (CASEIRO et al., 2006).

### **2.2.1 Principais Componentes Presentes em *Euphorbia tirucalli***

A *E. tirucalli* é caracterizada como uma planta tóxica, devido o seu látex ser rico em diterpenóides, ésteres diterpênicos de forbol, ingenanos, tiglianos, dafnanos e dafnanos aromáticos, que alteram suas concentrações em função das condições de estresse ambiental durante seu desenvolvimento, tais como, hídrico, clima seco, solo pobre em nitrogênio, elevação da salinidade, temperatura e luminosidade. (VARRICCHIO et al., 2008).

A planta *E. tirucalli* é composta também pelas seguintes substâncias químicas como os hidrocarbonetos terpênicos e aldeídos que são abordados na alopatia, óleos essenciais (eugenol), látex, goma tirucalli, ésteres de forbol, ingenano ésteres de ingenol, 4-desoxi-forbol e 12-Otetradecanoil forbol-13-acetato (SINOKI, 2011).

Observa-se que as substâncias da *E. tirucalli* consideradas de grande importância farmacológica, presentes em seu látex, são os diterpenos do tipo tigliano considerados precursores da alta toxicidade e causadores de tumores, os diterpenos do tipo ingenano possui ação anticancerígena, apontando expressivo bloqueio da proliferação da proteína quinase C, procedendo numa ação antiproliferativo e apoptótico em diversas células cancerígenas e o triterpenoeufol com caráter terapêutico, possui ação antiinflamatória e antiviral. O látex também é rico em terpenos, como os ésteres de phorbol, euphol, ingenól e flavonóide, este tendo diversas ações terapêuticas, dentre elas: a ação antiinflamatória e antioxidante, promovendo assim um efeito quimioprotetor contra enfermidades como câncer. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

### **2.2.2 Utilizações Clínicas Associadas ao Uso de *Euphorbia tirucalli***

Conforme estudos, a *E. tirucalli* foi utilizada para o tratamento de doenças causadoras de imunodeficiência e mostrou-se clinicamente eficiente, principalmente

em relação ao câncer de linhagem monoclonal quando empregada na forma líquida e dinamizada. (VARRICCHIO, 2000).

Analisando a solução diluída do látex da *E. tirucalli* na ação antimicrobiana *in vitro* versus o *Escherichia coli*, os ensaios indicaram que a solução contendo látex da *E. tirucalli* bloqueou o crescimento da cepa de *E.coli*, apresentando halos crescentes de inibição. (GONÇALVES; ARAÚJO, 2009).

Foram realizados em ratos análise de testes de toxicidade oral do látex de *E. tirucalli*, resultados demonstraram que a *E. tirucalli* não tem ação tóxica, embora necessite de mais estudos, podendo ser um indicativo de que o seu possível uso como um fito-medicamento venha a ser seguro. (MACHADO, 2007).

Em 1968, o médico nordestino Lauro Neiva administrou em seus pacientes o látex diluído da *E. tirucalli* em água (03 gotas/L) empregando como adjuvante no tratamento de diferentes enfermidades, como câncer e doença de chagas, obtendo sucesso nos resultados, desempenhando assim esta prática por vários anos. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

Através da avaliação da atividade antitumoral da *E. tirucalli* em tumores de glândulas mamárias de ratas, demonstrou que em baixas dosagens a solução diluída do látex, não induziu a redução dos tumores, porém, em altas dosagens, ocorreu estímulo ao crescimento tumoral, constatando assim, sua alta toxicidade quando administrado parenteralmente e sendo praticamente atóxico quando administrado via oral. (VARRICCHIO et al, 2008).

Comprovou-se que em testes realizados em camundongos, utilizando diluições de diversas concentrações do látex da *E. tirucalli* em solução salina, resultou na redução significativa de células tumorais, devido a ação da resposta antiinflamatória. (SINOKI, 2011).

O látex de *E. tirucalli* quando diluído em solução salina, mostrou uma atividade mielomoduladora e inibiu o crescimento tumoral em animais com células de tumor ascítico, também aumentou a sobrevivência dos ratos, considerando que o aumento da mielopoiese pode ser um possível mecanismo de atividade antitumoral. (AVELAR, 2010).

O látex quando ingerido em elevadas concentrações, mesmo diluído em água, pode provocar vasoconstrição, hipóxia tecidual e aumento da coagulação sanguínea, esta decorrente da ativação na produção de plaquetas, ocasionando o aparecimento de trombos. Podendo ainda causar lesões hepáticas, cólicas

abdominais, diarréia e levar a um estiramento muscular decorrente da sua toxicidade. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

Embora exista o risco toxicológico quanto ao consumo do látex diluído da *E. tirucalli* através da automedicação, sua utilização tradicional e popular é comum e indiscriminada para o tratamento de câncer e outras doenças graves, como Síndrome de Imuno Deficiência Adquirida (SIDA), asma, artrite reumatóide e sífilis, em certas regiões do nosso país e em outros países. (VARRICCHIO et al., 2008).

### **2.2.3 Atividade Mutagênica da *Euphorbia tirucalli***

A *E. tirucalli* possuindo capacidade de cura não somente como antitumoral, mas também como adaptógeno é empregada no tratamento de doenças crônico degenerativas. (VARRICCHIO, 2009).

Há relatos de estudos com determinadas espécies do gênero *Euphorbia* a respeito de sua atividade antiinflamatória e antitumoral. (VALADARES; CASTRO; CUNHA, 2007).

Estudos da avaliação de genotoxicidade do látex da *E. tirucalli* demonstrou resultado negativo. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

Conforme Avelar (2010), a administração via oral do extrato de *E. tirucalli*, diluído em solução salina utilizado em ratas grávidas, não representou riscos ao desenvolvimento do embrião, demonstrando assim que o látex da *E. tirucalli* não provocou toxicidade aos embriões.

O látex da *E. tirucalli* sem ser diluído pode ser altamente tóxico. No entanto, quando diluído em água tem o potencial de minimizar os efeitos tóxicos, tornando-se praticamente atóxico, na administração via oral. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

## **2.3 MUTAGENICIDADE**

O ser humano está exposto a uma diversidade de agentes químicos, através do consumo de alimentos, bebidas, uso de medicamentos entre outros. A exposição a agentes químicos genotóxicos pode causar alterações no material genético. (NETO, 2011).

Mutação é qualquer alteração capaz de modificar a informação genética, cuja consequência dos danos no genoma depende da natureza química da alteração com relação à estrutura do DNA. As principais alterações ocasionadas no DNA são rearranjos nas sequências, deleção de fragmentos e alteração nas bases nitrogenadas. (BRENSCHOT, 2008).

Efeitos genotóxicos provocam quebras no DNA, ocasionando perda de material genético e mutações, que decorrem em processos carcinogênicos. A genotoxicidade é avaliada utilizando-se testes de MN, os quais resultam em informações seguras e precisas, em relação à potencialidade em causar lesão no DNA. (FERNANDES, 2005).

Os MN são partículas originadas de fragmentos cromossômicos, que após a telófase, podem ou não ser abrangidos no núcleo das células filhas, formando simples ou múltiplos MN no citoplasma, decorrentes de danos no DNA. (HOSHI, 2009) (Figura 1).

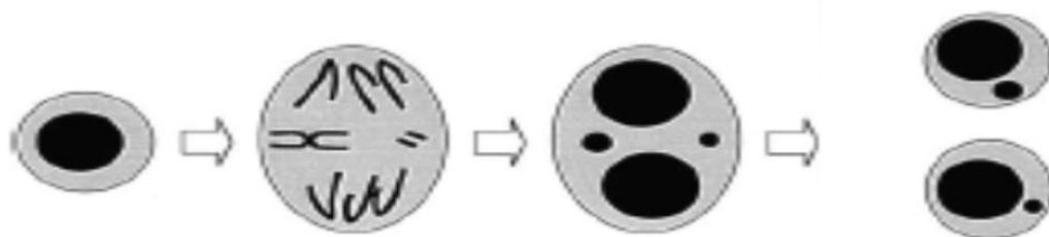


Figura 1 - Formação de micronúcleos em células eucarióticas  
Fone: Neto (2011)

As mutações gênicas atuam no processo de carcinogênese, detectando-se componentes genotóxicos através de bioensaios como o teste de MN, permitindo identificar substâncias com risco potencial à saúde da população. (VARANDA, 2006). Os MN são resultados de danos reparados de forma incorreta pelas células, tendo fácil visualização devido a sua estrutura ser semelhante ao núcleo da célula, porém, de tamanho menor. (SOUZA, 2010).

A presença de MN é decorrente de fenômeno natural, porém tem sua frequência aumentada quando em contato com agentes genotóxicos. Os MN formados por indução de compostos genotóxicos, só apareceram após o ciclo de divisão celular. Danos cromossômicos estruturais são ocasionados com a exposição

do agente mutagênico ao DNA, na replicação, recombinação ou mecanismo de reparo. (VILCHES, 2009).

A análise de MN serve como teste de mutagenicidade e genotoxicidade, é também um dos poucos métodos diretos para detectar danos em sistemas expostos a agentes mutagênicos ou carcinogênicos. (SOUZA; PADULA; IRAZUSTA, 2010). A grande vantagem do teste de MN em relação a outros testes é a sensibilidade, rapidez na análise e capacidade de contagem de elevado número de células em um curto tempo, utilizando-se apenas contador e microscópio óptico. (VILLELA, 2006).

Alguns vegetais possuem substâncias propulsoras de mutações. Por isso, atenta-se a necessidade de se realizar estudos, fazendo-se testes que detectem o efeito mutagênico dentre eles o teste de micronúcleos. (NETO et al., 2005).

#### 2.4 TESTES DE MICRONÚCLEOS EM *Allium cepa*

Para a detecção de alterações no DNA e genotoxicidade, utilizam-se testes de bioensaios como a *A. cepa* para analisar substâncias tóxicas que provocam mutações gênicas. (OLIVEIRA; VOLTOLINI; BARBÉRIO, 2011). As alterações na replicação do DNA e a transmissão genética são causadas por agentes genotóxicos, desta maneira, a intensidade de genotoxicidade abrange principalmente, danos no DNA, mutações e alterações cromossômicas. Os ensaios de genotóxicos *in vivo* e *in vitro* são instrumentos sensíveis para a detecção da genotoxicidade e do potencial de carcinogenicidade, que tem aumentado em seres humanos através de exposição ocupacional, acidental ou por estilo de vida. (NETO, 2011).

O sistema de teste *A. cepa* é usado para a determinação de alterações cromossômicas, na detecção de mutagenicidade e carcinogenicidade, por ser um teste direto, expondo suas raízes diretamente em contato com a substância testada. O sistema é admitido para o estudo de efeitos de citotoxicidade de plantas medicinais, possibilitando a avaliação em diferentes concentrações. (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

*A. cepa* tem sido apontada como um competente organismo-teste possuindo excelente cinética de proliferação, ágil germinação, elevada quantidade de células em divisão, cromossomos em número reduzido e de grande tamanho e adaptando a

diversas condições de cultivo, de fácil manejo e custo acessível. (SOUZA; PADULA; IRAZUSTA, 2010).

O aparecimento de MN é utilizado na avaliação de efeitos mutagênicos induzidos por agentes tóxicos, danos estes, reparados de forma errada pelas células, formando uma estrutura similar ao núcleo, porém de menor tamanho. (SOUZA, 2010). O teste de MN é utilizado na detecção de agentes clastogênicos e aneugênicos, também internacionalmente recomendado para a avaliação do potencial mutagênico. (NETO et al., 2005).

Avaliações de MN em espécie de *A. cepa* estão sendo utilizada devido a sua alta sensibilidade e boa relação com outros sistemas-teste, sobretudo com os de mamíferos, possuindo fatores para avaliação de forma mais precisa. Verifica-se que o teste de *A. cepa* tem a mesma sensibilidade que os sistemas-testes de algas e de linfócitos humanos. Também demonstrando maior sensibilidade quando comparados ao testes de *Vicia faba*. (LEME; MORALES, 2007).

Quando o teste de *A. cepa* resultar positivo considera-se que a substância testada pode provocar danos biológicos também a outros organismos. Assim, os cromossomos de *A. Cepa* tem auxiliado na pesquisa do câncer, tendo grande importância, por proporcionar diagnóstico rápido sobre reações causadas por agentes tóxicos, prejudiciais a saúde humana. (FERNANDES, 2005).

Diferentes testes citotóxicos e genotóxicos indicadores de mutagenicidade foram desenvolvidos, muitos destes, embora sensíveis, são caros e exigem laboratórios sofisticados, porém o teste do *A. cepa* é simples e tem a vantagem de ser rápido, possuindo sistema celular eucariótico, cuja fisiologia é mais próxima a das células dos mamíferos. (MACHADO et al., 2005).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimutagênica da planta de *Euphorbia tirucalli* (avelóz) utilizando-se teste de micronúcleo em *Allium cepa*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a atividade antimutagênica de *E. tirucalli*;
- Relacionar possíveis reações benéficas com malélicas do consumo de *E. tirucalli*;
- Favorecer o consumo de *E. tirucalli* pelo homem;
- Verificar a eficácia do teste de micronúcleo em *E. tirucalli* como forma de identificar alterações mutagênicas.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 OBTENÇÃO E PREPARO DA AMOSTRA

A planta utilizada nos testes foi coletada no setor quatro no município de Ariquemes/RO. As amostras dos ramos da *E. tirucalli* foram enviadas ao Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA) no município de Ariquemes-RO.

No laboratório, foram selecionados os ramos saudáveis, descartando os secos e contaminados por fungos, lavados com água destilada e posteriormente realizou-se a cisão dos ramos para a extração do látex, com o auxílio de uma pipeta automática (Figura 2).



Figura 2 - A - Planta *E. tirucalli*, B - Extração do látex da *E. tirucalli*

Utilizou-se o látex do mesmo ramo da planta e água mineral da mesma origem para os demais grupos, evitando assim o falso-negativo por ramos ou solventes diferentes.

Adquiriram-se os bulbos de *A. cepa* no mercado municipal do município de Ariquemes, Rondônia, Brasil, no dia 28 de março de 2012, selecionando-os de acordo com tamanhos semelhantes (pequenos), da mesma origem, não germinados, saudáveis, descartando-se os ressecados ou com indícios de contaminação por fungos. Também foram retiradas as cascas secas mais externas e as raízes velhas, sendo em seguida lavadas com água destilada corrente.

## 4.2 CONCENTRAÇÕES DOS GRUPOS CONTROLE

Os ensaios controle foram realizados com água mineral pura (controle negativo), e uma solução de  $\text{CuSO}_4$  25 mg/L (controle positivo).(CARITÁ, 2010).

Segundo Souza (2010), foram analisados os efeitos do sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) na indução de alterações cromossômicas e danos ao DNA em células das raízes de *A. cepa* e foi constatado significativas induções de danos no DNA e possível toxicidade.

## 4.3 ANÁLISE MUTAGÊNICA

Para a realização dos experimentos, foram utilizados 70 bulbos de *A. cepa*, que foram postos a germinar com a parte inferior mergulhada em soluções de diferentes concentrações do látex da *E. tirucalli*, por um período de 48 horas a uma temperatura de 25°C, em frascos apropriados (50 mL) e esterilizados (Figura 3), divididos em sete grupos com diferentes concentrações, representados na tabela 2.

Tabela 2. Concentrações do látex de *E. tirucalli* nos respectivos grupos e controles negativo e positivo

<b>Grupo</b>	<b>Quant. bulbo</b>	<b>Solução</b>	<b>Concentração de látex da <i>E. tirucalli</i></b>
1	10	Água mineral pura (Controle negativo)	-----
2	10	Solução de $\text{CuSO}_4$ 25 mg/L (Controle positivo)	-----
3	10	Solução de $\text{CuSO}_4$ 25 mg/L	5 $\mu\text{L}$
4	10	Solução de $\text{CuSO}_4$ 25 mg/L	10 $\mu\text{L}$
5	10	Solução de $\text{CuSO}_4$ 25 mg/L	15 $\mu\text{L}$
6	10	Solução de $\text{CuSO}_4$ 25 mg/L	20 $\mu\text{L}$
7	10	Solução de $\text{CuSO}_4$ 25 mg/L	25 $\mu\text{L}$



Figura 3 - A - Germinação de *A. cepa* no látex da *E.tirucalli*, B – Meristemas de *A. cepa*

Ao atingir o tamanho de 0,5 a 3 cm de comprimento, os meristemas foram coletados com o auxílio de um bisturi e colocados em tubos de ensaio, onde foram lavados com água destilada e hidrolisados com ácido clorídrico (HCl) a 1 mol/L, por 10 minutos em banho-maria a 60 C°, posteriormente os tubos de ensaio foram resfriados em água corrente (Figura 4).

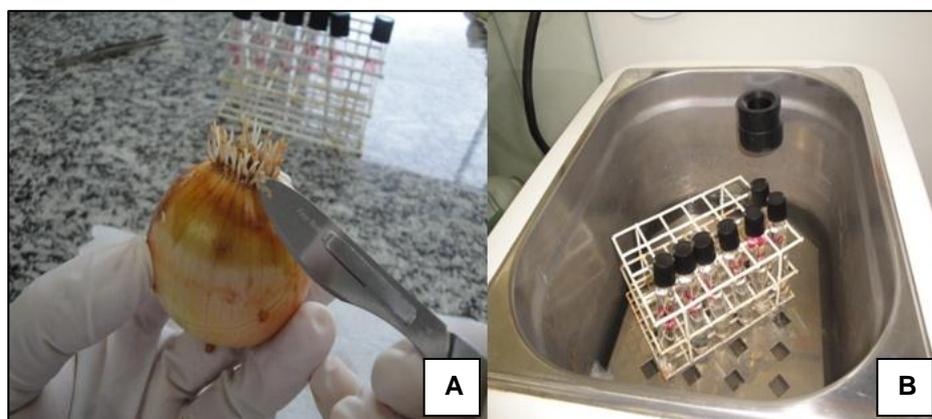


Figura 4 - A - Coleta dos meristemas de *A. cepa*, B – Banho Maria dos meristemas de *A. cepa*

Após a lavagem dos meristemas hidrolisados com água destilada, foram feitos esfregaços com lamínula em duas lâminas para cada *A. cepa*, em todas as concentrações analisadas, totalizando 140 lâminas. Após 30 minutos de secagem, as lâminas foram coradas com o Kit Panótico Rápido LB que é composto de três recipientes: o primeiro com triarilmetano a 0,1 %, o segundo com xantenos a 0,1% e

o terceiro com tiazinas a 0,1 %, sendo as lâminas mergulhadas 10 vezes em cada recipiente com submersão de 1 segundo de duração na sequência acima descrita. Em seguida, as lâminas foram lavadas com água destilada corrente para retirar o excesso de corantes e secas à temperatura ambiente. (MENEGUETTI et al., 2011).

A avaliação das lâminas consistiu na observação da presença de MN em 1000 células na interfase por bulbo em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x tendo um aumento de 400x totalizando 20.000 células por grupo (Figura 5).

Em cada lâmina foram contabilizados pela mesma pessoa, fragmentos cromossômicos de DNA citoplasmáticos contados como MN, determinando frequências de células micronucleadas e portadoras de anormalidades nucleares.

Na identificação de MN foram adotados alguns critérios para a análise, como boa preservação, coloração do citoplasma e do núcleo, MN e o núcleo principal dentro do mesmo citoplasma, ausência de conexão entre núcleo e MN e diâmetro máximo do MN não ultrapassando a 1/3 do núcleo. (CARITÁ, 2010).

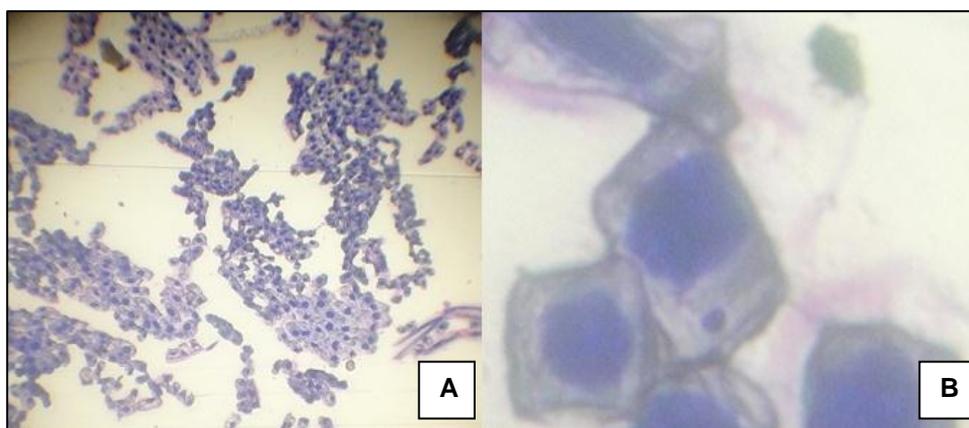


Figura 5 - A - Células de *A. cepa* (ocular: 10x, objetiva 10x), B - Micronúcleo em célula de *A. cepa* (ocular: 10x, objetiva 40x)

Para a análise estatística dos dados foi utilizado teste de variância (ANOVA) e teste não-paramétrico TUKEY, feito pelo Software Graphad PRISM 5.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos da análise antimutagênica em teste *A. cepa* germinadas em diferentes concentrações do látex, da planta *E. tirucalli*, em solução de  $\text{CuSO}_4$  estão representados na tabela 3.

Tabela 3. Média de micronúcleos em *A. cepa* a cada 1000 células por lâmina em soluções de  $\text{CuSO}_4$  em diferentes concentrações de látex da planta *E. tirucalli*

Frascos	H <sub>2</sub> O	CuSO <sub>4</sub>	05µL*	10µL*	15µL*	20µL*	25µL*
Frasco 1	03	04	03	03	06	07	02
	02	02	05	01	05	04	03
Frasco 2	09	02	02	04	02	02	02
	01	07	02	04	02	02	06
Frasco 3	04	04	04	04	03	04	03
	01	05	03	10	05	02	01
Frasco 4	01	02	02	01	02	02	01
	01	03	09	03	03	04	02
Frasco 5	02	05	03	05	03	01	05
	06	03	10	02	02	02	03
Frasco 6	14	05	03	02	06	02	03
	03	08	12	06	02	02	04
Frasco 7	03	14	02	01	03	03	01
	01	05	02	02	04	02	01
Frasco 8	01	08	05	03	07	04	02
	01	03	01	09	02	01	04
Frasco 9	01	07	04	07	02	04	01
	01	07	03	03	08	03	02
Frasco 10	01	03	08	02	02	05	02
	05	05	02	01	04	04	01
<b>TOTAL</b>	<b>61</b>	<b>102</b>	<b>85</b>	<b>73</b>	<b>73</b>	<b>60</b>	<b>49</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>3,05</b>	<b>5,10</b>	<b>4,25</b>	<b>3,65</b>	<b>3,65</b>	<b>3,00</b>	<b>2,45</b>

\* em meio de solução de  $\text{CuSO}_4$  25 mg/L

Interpretando os dados da tabela acima, verifica-se a média de 3,05 MN para cada 1000 células contabilizadas na concentração de água mineral pura, sendo que a mesma foi considerada como controle negativo, demonstrando assim que a média encontra-se dentro do padrão de normalidade. Também se observou uma média de 5,1 MN para cada 1000 células contabilizadas na concentração de solução de  $\text{CuSO}_4$  25 mg/L, sendo que a mesma foi considerada como controle positivo.

As soluções contendo 5 $\mu\text{L}$ ; 10 $\mu\text{L}$ ; 15 $\mu\text{L}$ ; 20 $\mu\text{L}$  e 25 $\mu\text{L}$  do látex da *E. tirucalli* tiveram médias da frequência de MN de 4,25 ( $p>0,05$ ); 3,65 ( $p>0,05$ ); 3,65 ( $p>0,05$ ); 3,00 ( $p>0,05$ ) e 2,45 ( $p<0,05$ ) respectivamente, por 1000 células, notando-se que as mesmas não apresentaram significância estatística em comparação as demais soluções, apresentando significância estatística na concentração de 25 $\mu\text{L}$  quando comparados ao controle positivo, demonstrando que apenas a mesma dentre as concentrações analisadas obteve efeito antimutagênico nas células induzidas à mutação pela solução de  $\text{CuSO}_4$  25 mg/L (Figura 6).

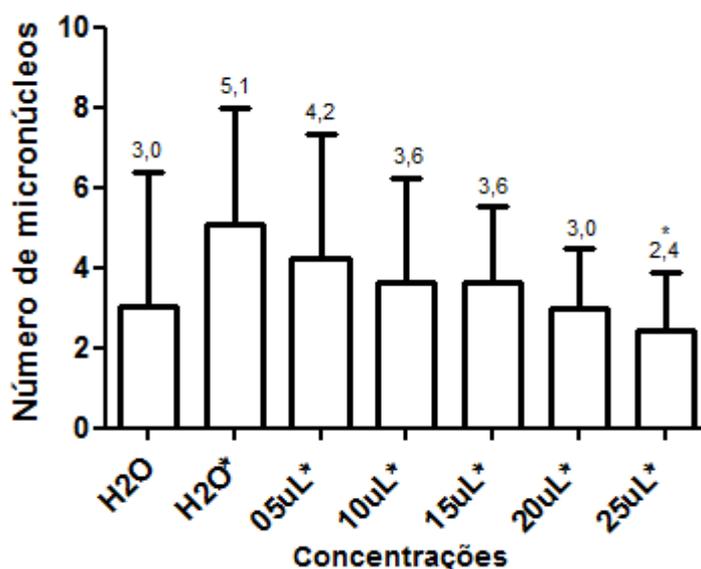


Figura 6 - Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por concentrações de látex da planta *E. tirucalli*. Significativo para  $p<0,05$  \*

Os ensaios de atividade antimutagênica relataram que as soluções de  $\text{CuSO}_4$  contendo diferentes concentrações do látex de *E. tirucalli* (5 $\mu\text{L}$ , 10 $\mu\text{L}$ , 15 $\mu\text{L}$  e 20 $\mu\text{L}$ ) não causaram inibição significativa dos efeitos genotóxicos, induzidos pela exposição em solução de  $\text{CuSO}_4$  25 mg/L.

O consumo da planta *E. tirucalli* não está autorizado para fins de manipulação ou fabricação de medicamentos, até que seja submetida a testes de segurança, eficácia, mutagenicidade e toxicidade preconizados pela ANVISA a fim de evitar riscos a saúde do ser humano, embora esteja sendo irregularmente comercializada pela população brasileira, para tratamento de câncer entre outras doenças. (BRASIL, 2011).

Em consonância com Marques (2011), nas análises desenvolvidas *in vitro*, verificou-se a necessidade de avaliar a atividade de *E. tirucalli in vivo*, a fim de comprovar seus prováveis efeitos antitumorais. Os dados presentes neste trabalho terão importância significativa para enriquecer os estudos sobre conhecimento da ação antitumoral da *E. tirucalli* em concordância a outros trabalhos realizados. (SINOKI, 2011; VARRICCHIO et al., 2008).

Alerta-se que a planta *E. tirucalli* pode ter efeito medicinal ou tóxica, dependendo da dose administrada, atentando-se para a importância da administração de doses corretas a fim de evitar toxidez, mesmo quando ingerida em altas diluições, pois mesmo assim não descarta-se o risco de provocar efeitos tóxicos crônicos quando ingerido em excesso. (TOFANELLI; SILVA, 2011).

Enfim, são muitas as plantas de uso popular que oferecem efeitos genotóxicos, devendo-se ter mais cautela no uso pela população, no entanto, avanços biotecnológicos vêm admitindo a síntese e modificações de estruturas ativas, objetivando a obtenção de produtos com maior atividade terapêutica e menor toxicidade. (VARANDA, 2006).

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, a *E. tirucalli* apresentou efeitos antimutagênicos na concentração de 25µL do látex da *E. tirucalli* em solução de CuSO<sub>4</sub> 25 mg/L, demonstrando significância estatística ( $p < 0,05$ ), quando comparada ao grupo controle positivo e as demais concentrações: 5µL, 10µL, 15µL e 20µL não apresentaram efeito antimutagênico quando comparadas estatisticamente ( $p > 0,05$ ) ao controle positivo.

Apesar da eficácia do teste *A. cepa* para detectar danos mutagênicos analisados pela presença de micronúcleos utilizando *E. tirucalli*, sugere-se novos estudos *in vitro* e *in vivo*, em diferentes e elevadas concentrações de *E. tirucalli*, para uma melhor avaliação de sua ação antimutagênica.

## REFERÊNCIAS

AVELAR, B. A. de. **Detecção *in vitro* de Citocinas Intracitoplasmáticas (Interferon Gama, Fator de Necrose Tumoral, Interleucina 10) em Leucócitos Humanos Tratados com Extrato Bruto Diluído de *Euphorbia tirucalli***. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) Universidade Federal, Diamantina, 2010. Disponível em: <<http://acervo.ufvjm.edu.br:8080/jspui/bitstream/1/110/1/Monografia%20Bet%C3%A2nia.pdf>>. Acesso em: 04 Maio 2012.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. da; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Jul./Set. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n3/18.pdf>>. Acesso em: 20 Maio 2012.

BARBOSA, B. F. F.; CHEN, L. C. **Avaliação da atividade antimutagênica do látex da *Synadenium umbellatum* pelo teste de AMES**. Instituto de Ciências Biológicas, Brasil, 2010. Disponível em: <[http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/BRUNO\\_FR.PDF](http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/BRUNO_FR.PDF)>. Acesso em: 03 Maio 2012.

BARG, D. G. **Plantas Tóxicas**. INSTITUTO BRASILEIRO DE ESTUDOS HOMEOPÁTICOS. Faculdade de Ciências da Saúde. 2004. Disponível em: <[http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/plantas\\_toxicas.pdf](http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/plantas_toxicas.pdf)>. Acesso em: 02 Maio 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada No 48/2004. **Medicamentos Fitoterápicos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/definicao.htm>>. Acesso em: 09 Junho 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Proibição a distribuição e comercialização do avelóz (*Euphorbia tirucalli*)**. 2011. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res2917\\_06\\_07\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res2917_06_07_2011.html)>. Acesso em: 01 Junho 2012.

BRENSCHOT, A. S. **Mutagenese Visando à Aplicação da Genética Reversa em *Petúnia (Petunia x hybrida)***. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical Área de concentração Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia). Instituto Agrônomo, Campinas-SP, 2008. Disponível em:

<<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/dissertacoes/pb1210206.pdf>>. Acesso em: 22 Junho 2012.

CARITÁ, R. **Avaliação do Potencial Genotóxico e Mutagênico de Amostras de Águas de Recursos Hídricos que Recebem Efluentes Urbanos e Industriais do Pólo Ceramista da Cidade de Santa Gertrudes – SP.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Instituto de Biociências, Rio Claro, 2010. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/bolsas/107654/avaliacao-potencial-genotoxico-mutagenico-amostras/>>. Acesso em: 27 Março 2012.

CASEIRO B. et al. **Estudo do Potencial de cura de Formas de Câncer utilizando Avelóz (*Euphorbia Tirucalli*).** Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2006. Disponível em: <<http://www.ciencialivre.pro.br/media/9543103a2878dfb8ffff815efffd524.pdf>>. Acesso em: 04 maio 2012.

FERNANDES, T. C. C. **Investigação dos Efeitos Tóxicos, Mutagênicos e Genotóxicos do Herbicida Trifluralina, Utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como Sistemas-Testes.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas Biologia Celular e Molecular. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Instituto de Biociências, Rio Claro, 2005. Disponível em: <[http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/brc/33004137046P4/2005/fernandes\\_tcc\\_me\\_rcla.pdf](http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/brc/33004137046P4/2005/fernandes_tcc_me_rcla.pdf)>. Acesso em: 22 Junho 2012.

GAMEIRO, P. H. **Efeito Antimutagênico do Extrato Aquoso de *Agaricus brasiliensis* em Cultura de Linfócitos Humanos.** Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2005. Disponível em: <[http://www.ufpel.tche.br/prg/sisbi/bibct/acervo/biologia/2005/tcc\\_paula\\_gameiro.pdf](http://www.ufpel.tche.br/prg/sisbi/bibct/acervo/biologia/2005/tcc_paula_gameiro.pdf)>. Acesso em: 02 maio 2012.

GONÇALVES, D. M.; ARAÚJO, J. H. B. de. Aplicação do látex Bruto de *Euphorbia tirucalli*. L. no combate ao microrganismo *Echerichia coli*. **Seção Química e Ambiental.** Campo Mourão – PR, Brasil, v. II, [s.n.], 2009. Disponível em: <[http://www.nacamura.com.br/sicite/sicite2009/artigos\\_sicite2009/108.pdf](http://www.nacamura.com.br/sicite/sicite2009/artigos_sicite2009/108.pdf)>. Acesso em: 01 maio 2012.

HOSHI, L. **Genotoxicidade em Floricultores da Região Serrana do Rio de Janeiro: Uso do Teste de Micronúcleo na Mucosa Oral.** Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Fundação Oswaldo Cruz Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca Saúde Pública e Meio Ambiente – Toxicologia, Rio de Janeiro, 2009.

Disponível em: <[http://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/2438/1/ENSP\\_Disserta%C3%A7%C3%A3o\\_Hoshi\\_Lyssa.pdf](http://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/2438/1/ENSP_Disserta%C3%A7%C3%A3o_Hoshi_Lyssa.pdf)>. Acesso em: 16 Junho 2012.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. **Avaliação da qualidade de águas impactadas por petróleo por meio de sistema-teste biológico (*Allium cepa*)**. Instituto de Biociências, Rio Claro, 2007. Disponível em: <[http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO\\_6\\_2\\_0086-1.pdf](http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/4/resumos/4PDPETRO_6_2_0086-1.pdf)>. Acesso em: 20 Maio 2012.

LOPEZ, C. A. A. **Considerações gerais sobre plantas medicinais**. Universidade Estadual de Roraima, 2006. Disponível em: <<http://www.uerr.edu.br/revistas/remgads/uploads/c881ba82-2317-4bc2.pdf>>. Acesso em: 09 Junho 2012.

MACEDO, A. F.; OSHIWA, M. I.; GUARIDO, C. F. I. Ocorrência do uso de plantas medicinais por moradores de um bairro do município de Marília-SP. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. São Paulo, v. 28, n. 1, p. 123 -128, 2007. Disponível em: <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewFile/354/339](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/354/339)>. Acesso em: 04 Maio 2012.

MACHADO, L. S. et al. **Avaliação de atividade genotóxica em águas pluviais pelo teste do *Allium cepa***. CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, Goiânia, 2005. Disponível em: <[http://www.ufg.br/conpeex/2006/porta\\_arquivos/pivic/1363986-LilianedaSilvaMachado.pdf](http://www.ufg.br/conpeex/2006/porta_arquivos/pivic/1363986-LilianedaSilvaMachado.pdf)>. Acesso em: 22 Junho 2012.

MACHADO, M. M. **Perfil Fotoquímico e Avaliação dos Principais Efeitos Biológicos e Imunológicos *in vitro* da *Euphorbia tirucalli* L.** 2007.105 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2007. Disponível em: <[http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde\\_arquivos/19/TDE-2010-03-11T104834Z-2491/Publico/MACHADO,%20MICHEL%20MANSUR.pdf](http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde_arquivos/19/TDE-2010-03-11T104834Z-2491/Publico/MACHADO,%20MICHEL%20MANSUR.pdf)>. Acesso em: 20 Janeiro 2012.

MARQUES, F. C. **Plantas Mediciniais com Potencial Ação Antitumoral**. Universidade FEEVALE, Novo Hamburgo, 2011. Disponível em: <<http://ged.feevale.br/bibvirtual/Artigo/ArtigoFabricioMarques.pdf>>. Acesso em: 02 Junho 2012.

MENEGUETTI, D. U. O. et al. **Adaptation of the technique of micronucleus in allium cepa for future analysis of mutagenicity of the rivers of jamari valley, rondônia, western amazon, Brazil.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MUTAGÊNESE, CARCINOGENESE E TERATOGENESE AMBIENTAL, São Pedro Anais V-Sub-área: Genotoxicidade de contaminantes ambientais e relação gene-ambiente e saúde, 2011. p. 6.

NETO, J. X. de A. et al. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) *in vivo*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, 2005. Disponível em: <<http://eduep.uepb.edu.br/rbct/sumarios/pdf/mutagenese.pdf>>. Acesso em: 25 Junho 2012.

NETO, M. P. L. **Avaliação Tóxica, Citotóxica, Genotóxica e Mutagênica do Composto 3- (2-Cloro-6-Fluorobenzil)-Imidazolidina-2,4-Diona em Células Eucarióticas.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011. Disponível em: <[http://www.ufpi.br/subsiteFiles/ppgcf/arquivos/files/Avaliacao%20toxica,%20citotoxica,%20genotoxica%20e%20mutagenica%20do%20composto%203-\(2-cloro-6-fluorobenzil\)-imidazolidina-2,4 diona %20 em% 20celulas %20 eucarioticas %20-%20Manoel%20Pinheiro%20Lucio%20Neto.PDF](http://www.ufpi.br/subsiteFiles/ppgcf/arquivos/files/Avaliacao%20toxica,%20citotoxica,%20genotoxica%20e%20mutagenica%20do%20composto%203-(2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2,4 diona %20 em% 20celulas %20 eucarioticas %20-%20Manoel%20Pinheiro%20Lucio%20Neto.PDF)>. Acesso em: 04 Junho 2012

OLIVEIRA, L. M. de; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Revista Ambiente & Água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, São Paulo, v. 6, n.1, 2011. Disponível em: <<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/928/92817183008.pdf> >. Acesso em: 01 Junho 2012.

PEREIRA, F. de C. et al. Avaliação citogenética em indivíduos ocupacionalmente expostos ao chumbo. **Estudos, Goiania**, v. 35, n. 1/2, p. 107-122, jan./fev. 2008. Disponível em: <<http://seer.ucg.br/index.php/estudos/article/viewFile/563/448>>. Acesso em: 17 Maio 2012.

ROCHA, C. A. M. da. et al. **Estudo de micronúcleos e outras alterações nucleares em girinos de *Rana catesbeiana* expostos ao sulfato de cobre.** 61ª REUNIÃO ANUAL DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, [2001?]. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/61ra/resumos/resumos/6209.htm>>. Acesso em: 03 maio 2012.

RODRIGUES, H. G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 3, 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722011000300016&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722011000300016&lang=pt)>. Acesso em: 22 Junho 2012.

SINOKI, L. et al. **Survey about therapeutic function of Avelóz *Euphorbia tirucalli* Linnaeus 1753 (Malpighiales: Eiphorbiceae)**. Ourinhos, 2011. Disponível em: <[http://fio.edu.br/cic/anais/2011\\_x\\_cic/PDF/Farmacia/LEVANTAMENTO%20SOBRE%20AS%20PROPRIEDADES.pdf](http://fio.edu.br/cic/anais/2011_x_cic/PDF/Farmacia/LEVANTAMENTO%20SOBRE%20AS%20PROPRIEDADES.pdf)>. Acesso em: 20 Janeiro 2012.

SOUZA, C. C. de. **Caracterização Química e Toxicológica do Efluente de um Laboratório de Análises de Ligas Metálicas-Proposta de Tratamento Pré-emissão**. Dissertação (Mestrado). Programa de Mestrado em Tecnologia: Gestão, Desenvolvimento e Formação. Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza. São Paulo 2010. Disponível em: <<http://www.centropaulasouza.sp.gov.br/Posgraduacao/Trabalhos/Dissertacoes/tecnologias-ambientais/2010/cristiane-campos-de-sousa.pdf>>. Acesso em: 02 Junho 2012.

SOUZA, C. de; PADULA, L.; IRAZUTA, S. P. **Influência do Pré-Tratamento do Efluente de um Laboratório de Análises de Ligas Metálicas na sua Atividade Mutagênica, Avaliada por Bioensaios em Plantas**. São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.centropaulasouza.sp.gov.br/pos-graduacao/workshop-de-pos-graduacao-e-pesquisa/anais/2010/Trabalhos/gestao-e-desenvolvimento-de-tecnologias-ambientais/Trabalhos%20Completo/SOUZA,%20Cristiane%20Campos%20de.pdf>>. Acesso em: 01 Junho 2012.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. **Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia, ES**. 2006. Disponível em: <[http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/Medicinais\\_STer\\_Mari.pdf](http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/Medicinais_STer_Mari.pdf)>. Acesso em: 20 Maio 2012.

TOFANELLI, E. J.; SILVA, F. A. Propriedades fitoterápicas de *Euphorbia tirucalli*: da etnobotânica a farmacognosia. **Revista da Biologia e Farmácia**. Mato Grosso, v. 06, n. 01, p. 151-166, 2011. Disponível em: <[http://eduep.uepb.edu.br/biofar/v6n1/propriedades\\_fitoter%C3%A1picas\\_de\\_euphorbia\\_tirucalli\\_l\\_da\\_etnobot%C3%A2nica\\_a\\_farmacognosia.pdf](http://eduep.uepb.edu.br/biofar/v6n1/propriedades_fitoter%C3%A1picas_de_euphorbia_tirucalli_l_da_etnobot%C3%A2nica_a_farmacognosia.pdf)>. Acesso em: 04 Maio 2012.

VALADARES, M. C.; CASTRO, N. C.; CUNHA, L. C. *Synadenium umbellatum*: citotoxicidade e danos ao DNA de células da medula óssea de camundongos.

**Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 4, Oct./Dec. 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-93322007000400017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322007000400017)>. Acesso em: 01 Maio 2012.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara- SP, v. 27, n.1, p.1-7, 2006. Disponível em: <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewFile/355/340](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/355/340)>. Acesso em: 09 Junho 2012.

VARRICCHIO, M. C. B. N. et al. **Emprego do avelóz (*Euphorbia tirucalli*) Dinamizado no Tratamento do Câncer**. INSTITUTO HAHNEMANNIANO DO BRASIL, Rio de Janeiro, 2000. Disponível em: <<http://www.ihb.org.br/ojs/index.php/artigos/article/viewFile/144/87>>. Acesso em: 01 Junho 2012.

VARRICCHIO, M. C. B. N. et al. Uso de *Euphorbia tirucalli* (avelóz) em medicina tradicional e as evidências científicas. **Revista de Biologia e Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 03, n. 01, p. 84-92, 2008. Disponível em: <[http://eduep.uepb.edu.br/biofar/n2v1/O\\_USO\\_DE\\_EUPHORBIA\\_TIRUCALLI.pdf](http://eduep.uepb.edu.br/biofar/n2v1/O_USO_DE_EUPHORBIA_TIRUCALLI.pdf)>. Acesso em: 01 Maio 2012.

VARRICCHIO, M. C. B. N. et al. Cultivo *in vitro* de *Euphorbia tirucalli* (avelóz) avaliação da constituição química do látex, em diferentes condições de cultivo, e teste de atividade larvicida e juvenilizante em *Aedes aegypti*. **Revista de Biologia e Farmácia**. Rio de Janeiro, v. 02, n. 01, 2008. Disponível em: <[http://eduep.uepb.edu.br/biofar/n1v2/pdf\\_cultivo\\_in\\_vitro\\_de\\_euphorbia\\_tirucalli.pdf](http://eduep.uepb.edu.br/biofar/n1v2/pdf_cultivo_in_vitro_de_euphorbia_tirucalli.pdf)>. Acesso em: 02 Janeiro 2012.

VARRICCHIO, M. **Efeito Adaptógeno e Antitumoral de *Euphorbia tirucalli* (Aveloz) em Mastologia**. INSTITUTO HAHNEMANNIANO DO BRASIL. 2009. Disponível em: <<http://www.ihb.org.br/BR/docs/saladeimprensa/palestra/16052009.pdf>>. Acesso em: 01 Junho 2012.

VICTORIO, C. P.; LAGE, C. L. S. Uso de Plantas Medicinais. **Revista Saúde, Sociedade, Gestão e Meio Ambiente**, Rio de Janeiro, vol. 5, n. 1, p. 33-41, 2008. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/6322444/UsodePlantasMedicinais>>. Acesso em: 03 Maio 2012.

VILCHES, M. **Análise Genotóxica do Rio Candeias/RS Através do ensaio Cometa e Teste de Micronúcleos e Anormalidades Nucleares Utilizando Peixes como Bioindicadores**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. Centro Universitário FEEVALE, Novo Hamburgo, 2009. Disponível em: <<http://ged.feevale.br/bibvirtual/Dissertacao/DissertacaoMelissaVilches.pdf>>. Acesso em: 25 Junho 2012.

VILLELA, I. V. **Avaliação do Potencial Genotóxico de Amostras Ambientais da Região Hidrográfica da Bacia do Lago Guaíba**. Tese (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/7527>>. Acesso em: Junho 2012.