



ARTIGO

Efeitos do suco comercial de *Aloe vera* L. na germinação e antimutagenese em *Aspergillus nidulans* e pelo ensaio cometa em ratos Wistar

Alessandra Paim Berti^{1*}, João Roberto Máximo Júnior²,
Fábio dos Santos Barros³ e Carmem Lúcia M.S.C. da Rocha²

Recebido: 29 de janeiro de 2016 Recebido após revisão: 18 de abril de 2016 Aceito: 25 de abril de 2016
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3634>

RESUMO: (Efeitos do suco comercial de *Aloe vera* L. na germinação e antimutagenese em *Aspergillus nidulans* e pelo ensaio cometa em ratos Wistar). Efeitos do suco comercial de *Aloe vera* L. na germinação e antimutagenese em *Aspergillus nidulans* e pelo ensaio cometa em ratos Wistar. *Aloe vera*, popularmente conhecida como babosa, possui grande valor medicinal e é amplamente utilizada pela população em geral. Inúmeras atividades biológicas já foram relacionadas a essa planta, tais como antioxidante, antitumoral, hipoglicemiante, antibiótica, anti-inflamatória e imunomoduladora. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do suco comercial de *Aloe vera* no desenvolvimento de linhagens normais e mutantes do fungo *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans* e sobre a antimutagenese no sistema *methG1* neste fungo e a antigenotoxicidade em ratos Wistar, no Ensaio Cometa. Tanto nos testes de germinação como nos de antimutagenicidade no fungo, foram testadas duas concentrações do suco, 4% e 8% (v/v). Os animais foram tratados com o suco durante 7 dias com as concentrações 0,1 mL/100g p.c. e 0,2 mL/100g p.c., recebendo o quimioterápico etoposídeo como agente genotóxico no oitavo dia de tratamento. A maior concentração do suco (8%) mostrou-se mais eficiente, estimulando a germinação em todas as linhagens de *A. nidulans*. Entretanto, em relação à diminuição de esporos mortos e malformados, ambas as concentrações se mostraram benéficas, porém, de forma aleatória. A antimutagenicidade foi demonstrada somente pelo extrato a 8%. No Ensaio Cometa, ambas as concentrações foram protetoras em relação ao etoposídeo. Desse modo, os resultados descritos no presente estudo corroboram com os resultados presentes na literatura, associados às propriedades benéficas da *A. vera*.

Palavras-chave: Plantas medicinais, babosa, antimutagenicidade.

ABSTRACT: (Effects of *Aloe vera* L. commercial juice on germination and antimutagenesis in *Aspergillus nidulans*, and on Wistar rats as evaluated through the comet assay). *Aloe vera* L., popularly known in Brazil as “babosa”, has great pharmacognostic value and is widely used in folk medicine. Numerous properties have been identified in extracts of this plant, such as antioxidant, antitumor, antidiabetic, antibiotic, anti-inflammatory, and immunostimulatory activities. We aimed to evaluate the effect of *Aloe vera* commercial juice on the development of normal and mutant strains of *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans* and on antimutagenesis in the *methG1* system of this fungus; as well as its genotoxicity on Wistar rats, evaluated through the comet assay. In both germination and antimutagenicity assays, two juice concentrations (4% and 8%, v/v) were tested. Animals were treated for 7 days with juice at concentrations 0.1 mL/100 g c.p. and 0.2 mL/100 g c.p., receiving the chemotherapy etoposide as genotoxic agent in the eighth day of treatment. The highest juice concentration (8%) was the most efficient, stimulating germination in all *A. nidulans* strains. However, regarding the decrease in number of dead and malformed spores, both concentrations were beneficial, but through random effects. Antimutagenicity was observed only in the 8% extract. In the comet assay, on the other hand, both concentrations were antigenotoxic compared to the etoposide. Thus, our results corroborate the literature reports of beneficial properties in *A. vera*.

Keywords: Medicinal plants, Aloe, antimutagenicity.

INTRODUÇÃO

O ritmo acelerado do crescimento da industrialização e da civilização humana acarreta uma poluição ambiental, a nível mundial. Em meio a isso, o estilo de vida atual do homem o expõe de forma intensa a inúmeros agentes químicos, físicos e biológicos, potencialmente mutagênicos e consequentemente, nocivos à saúde, uma vez que induzem mutações, que contribuem para o aumento do risco de câncer, síndromes, hipertensão, obesidade, Alzheimer, outras enfermidades (Biral 2002, Estécio & Silva 2002, Düsman *et al.* 2012), malformações, envelhecimento e morte (Brown 1999, Ribeiro & Marques 2003).

O processo de carcinogênese é iniciado por uma alteração irreversível do DNA, sua replicação e a proliferação celular, de modo que a mutação inicial se fixe, indicando a relação direta entre a mutagenicidade e a carcinogenicidade (Loureiro *et al.* 2002). O desenvolvimento do câncer é o maior problema de saúde pública em âmbito mundial, inclusive nos países de primeiro mundo. Neste contexto, uma nova ciência está em evidência, denominada Nutrigenômica, que representa as interações entre a nutrição e o genoma, avaliando a influência de nutrientes e compostos bioativos na estrutura e expressão do genoma (Fenech *et al.* 2011). Segundo Afman & Müller (2006), essa união de saúde, dieta e genômica promove um au-

1. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária de Dourados, s/n, Caixa Postal 351, CEP79804-970, Dourados, MS, Brasil.

2. Laboratório de Genética Molecular e do Desenvolvimento, Universidade Estadual de Maringá (UEM). Avenida Colombo, 5790, Bloco H67(15), Jardim Universitário, CEP87020-900, Maringá, PR, Brasil.

3. Doutorado em Biologia Comparada (UEM). CEP87020-900, Maringá, PR, Brasil.

*Autor para contato. E-mail: alessandrabiologa@hotmail.com

mento no entendimento de como a nutrição influencia o metabolismo e o controle homeostático do organismo.

O etoposido é um dos quimioterápicos mais empregados no tratamento de diversos tipos de cânceres. Pelo fato de induzir lesões no genoma, como quebras de uma ou das duas fitas do DNA, causa a citotoxicidade de células doentes e sadias (David *et al.* 2001). A quimioterapia ocasiona vômitos, diarreia e uma grande diminuição no número de glóbulos brancos e vermelhos no sangue, deixando o organismo bastante debilitado. Daí a importância de uma dieta adequada rica em antioxidantes naturais, para proteger as células sadias, bem como, melhorar o sistema imunológico do paciente.

Aloe vera L., popularmente conhecida como babosa, é uma planta pertencente à família Asphodelaceae (Souza & Lorenzi 2005). Em função de possuir um grande valor medicinal (Singh *et al.* 2000), é amplamente utilizada pela população em geral. Possui inúmeras propriedades, como anti-inflamatória (Chithra *et al.* 1998), analgésica (Oliveira *et al.* 2010), cicatrizante (Mendonça *et al.* 2009), antibiótica (Surjushe *et al.* 2008), imunoestimuladora (Lissoni *et al.* 2009), antioxidante (Ojha *et al.* 2011, Abo-Youssef & Messiha 2013), antitumoral (Tomasin & Gomes-Marcondes 2010) e antidiabética/hipoglicemiante (Rajasekaran *et al.* 2004, Misawa *et al.* 2008, Abo-youssef & Messiha 2013).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo, avaliar o efeito do suco comercial de *A. vera* no desenvolvimento de linhagens normais e mutantes do fungo *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans*, sobre a antimutagenese no sistema *methG1* em *A. nidulans* e sobre a antigenotoxicidade no Ensaio Cometa, em ratos Wistar.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes

Quimioterápico Etoposido, obtido do Laboratório Darrow®, da marca Posidon® (100mg). Para o Ensaio Cometa, a agarose *Low Melting Point* (LMP) e agarose de ponto de fusão normal utilizados foram da marca Invitrogen®, e todos os outros reagentes foram da marca Merk®. O suco comercial de *A. vera* foi adquirido da Alpha Aloe® (Curitiba, PR).

Germinação em *Aspergillus nidulans*

Linhagens

Foram utilizadas as linhagens MSE e *biA1methG1* (Bimeth) normais para o desenvolvimento vegetativo e o mutante CLB3 (mutante para crescimento, esporulação e ciclo sexual).

Meio de cultura

Os meios de cultura utilizados foram meio completo líquido e sólido, preparados segundo Pontecorvo *et al.* (1953), Clutterbuck (1974) e Rocha (1997).

Tratamentos

Foram estabelecidas duas concentrações do Suco comercial Alpha Aloe®: [S4%]=4% e [S8%]=8%.

Análise da germinação

Conídios das linhagens MSE, Bimeth e CLB3 foram coletados de colônias com 5 dias de crescimento em meio completo, a 37 °C e transferidos para 0,01% (v/v) de Tween 80. As suspensões de conídios foram filtradas em lâ de vidro e inoculadas em meio completo com água (Controle) e meio completo com os diferentes tratamentos do suco comercial de Aloe (S4% e S8%). Em seguida, foram transferidos para lâminas de microscopia em câmara úmida e incubadas a 37 °C por um período de 8 horas. A cada 2 horas, as duas lâminas de cada condição foram analisadas ao microscópio óptico. Em cada leitura foram analisados 200 conídios e calculadas as porcentagens de conídios em cada uma das fases da germinação (conídio dormente, embebido, com botão germinativo e com tubo germinativo).

Na leitura de 8 horas, foi feita uma estimativa de sobrevivência, considerando-se vivos apenas os conídios com tubo germinativo e uma estimativa de conídios germinados malformados.

Sistema *methG1* em *Aspergillus nidulans*

Linhagem

A linhagem utilizada para o sistema *methG1* foi a Bimeth, de Glasgow (Escócia). Essa linhagem é deficiente para biotina (cromossomo I) e metionina (cromossomo IV), que possui duas vantagens: não tem translocações e a mutação *biA1* confere-lhe maior permeabilidade da parede celular.

Meio de cultura

Os meios de cultura foram preparados segundo Pontecorvo *et al.* (1953) e Clutterbuck (1974). O cultivo da linhagem Bimethantes do tratamento foi o meio completo (MC). O meio seletivo (SM) para análise dos mutantes foi o meio mínimo (MM) suplementado com biotina (0,02 µg/mL). O meio para teste de sobrevivência (SMM) foi preparado com a mesma composição do SM adicionando-se metionina (50 µg/mL).

Tratamentos

Como no sistema *methG1* os conídios têm que ser tratados na fase dormente, antes do teste foi feita uma análise das diferentes doses do suco comercial Alpha Aloe® sobre sua germinação. Com esses dados, foi determinado a dose de tratamento dos conídios com o suco comercial para o sistema metionina: [1]=4% e [2]=8% (v/v). Assim, conídios de linhagens crescidas por cinco dias a 37 °C foram coletados e divididos em tubos para cada tipo e concentração utilizada. O tempo de tratamento foi de quatro horas em função do potencial nutritivo do suco, pois os conídios começam a germinar. Após o tempo de tratamento, os conídios foram lavados e centrifugados por três vezes com água destilada. Para estimativa de sobrevivência, foram feitas diluições adequadas e inocu-

lado 0,1 mL da suspensão em dez placas de SMM, para cada tubo (tratamentos e controle) e incubados por três dias a 37 °C. Para análise dos mutantes, foi inoculado 0,1 mL da suspensão sem diluição em dez placas de SM para cada tubo (tratamentos e controle) e incubados por cinco dias a 37 °C. Todo este procedimento foi repetido em triplicata para todos os tratamentos e controle.

Ensaio cometa

Animais

Foram utilizados, para cada grupo experimental, cinco machos de ratos Wistar, *Rattus norvegicus*, advindos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os mesmos ficaram alojados em biotério sob condições controladas de temperatura ± 25 °C, umidade $\pm 50\%$, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro e água e ração oferecidos *ad libitum*. Os experimentos com os animais foram iniciados somente após uma semana de aclimação.

Todos os princípios éticos, protocolos e regulamentos sobre a experimentação com animais de laboratório foram utilizados de acordo com as normas estabelecidas internacionalmente e pelo projeto aprovado pelo Comitê de Ética Institucional da UEM, a Comissão de Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE)/UEM, seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), bem como os protocolos específicos de tratamento e coleta para o Ensaio Cometa.

Tratamentos

Foram separados aleatoriamente para cada grupo, cinco animais machos, com aproximadamente 100g pc. O controle negativo (C) e controle do etoposido (ETO) recebeu 0,1 mL/100g p.c. de água mineral e os grupos tratamentos, suco comercial de *Aloe vera*, em duas diferentes doses: [S1] = 0,1 mL/100g p.c. e [S2] = 0,2 mL/100g p.c., via gavagem, durante 7 dias. No último dia, foram administrados, via intraperitonal, etoposido (50mg/ Kg p.c.) nos grupos do controle positivo e grupos tratados com suco [S1] e [S2], enquanto que, para o controle negativo, 0,1 mL/100g p.c. de solução salina 0,9%. As coletas de sangue foram realizadas antes da aplicação de etoposido e salina, 1 hora depois e 24 horas depois, em todos os grupos.

Ensaio Cometa

A realização do ensaio foi de acordo com Singh *et al.* (1988) e Tice *et al.* (2000). Retirou-se uma amostra de 5 μ L de sangue da cauda do animal que foi adicionada a 120 μ L de agarose LMP (0,5% PBS), aplicada em duas lâminas pré-cobertas com agarose normal (1,5% PBS) e resfriada a 4 °C por 5 minutos. Em seguida, foram imersas na solução de lise a 4 °C (4,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH 10,0, 1% de Triton-X e 10% de DMSO) por no mínimo 3 h e no máximo 24 h. Após esse período, as lâminas foram incubadas em tampão de eletroforese a 4 °C (300 mM NaOH e 200 mM EDTA, pH >13) por 25 minutos. Foi realizada a eletroforese (300

mA, 0,7 V/cm) com duração de 25 minutos. Após esse procedimento, foram neutralizadas três vezes (5 minutos cada) em solução de neutralização (0,4 M Tris-HCl, pH 7,5) e, em seguida, fixadas com etanol absoluto por 5 minutos, secas em temperatura ambiente e mantidas a 4 °C antes da análise. As lâminas foram coradas com 20 μ L de brometo de etídio (20 μ g/mL), cobertas com lâminulas e analisadas em microscópio de fluorescência. Cinquenta células de cada lâmina, totalizando cem células por animal, foram analisadas para obtenção da porcentagem de células danificadas por animal, a frequência de danos (FD). Cada célula danificada foi classificada de 0 a 4, de acordo o tamanho da cauda do cometa para se calcular o índice de dano (ID). Este índice foi calculado multiplicando-se o número de células em cada nível, pelo valor deste nível. Assim, este índice variou entre 0 (todas as células sem danos – 0×100) a 400 (todas as células com dano máximo – 4×100).

Estatística

A análise estatística das germinações foi calculada pelo teste do Qui-quadrado ($\alpha=0,05$) e dos experimentos do sistema *methG1* foi feita segundo Munson & Goodhead (1977), adaptado para o sistema *methG1* por Scott *et al.* (1982). Os resultados do Ensaio Cometa foram analisados de acordo com o Teste de Tuckey ($p<0,001$), utilizando o programa Instat.

RESULTADOS

A figura 1 apresenta a velocidade de germinação da linhagem Bimeth, demonstrando que o tratamento S8% estimulou, de forma evidente, o desenvolvimento dos conídios, acelerando a sua germinação. Porém, somente as taxas de germinação observadas na leitura de 4 horas foram estatisticamente significativas em relação ao controle.

Os resultados da velocidade de germinação da linhagem MSE não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em ambas as concentrações do suco testadas, não interferindo, portanto, de forma expressiva no desenvolvimento dos conídios (Fig. 2).

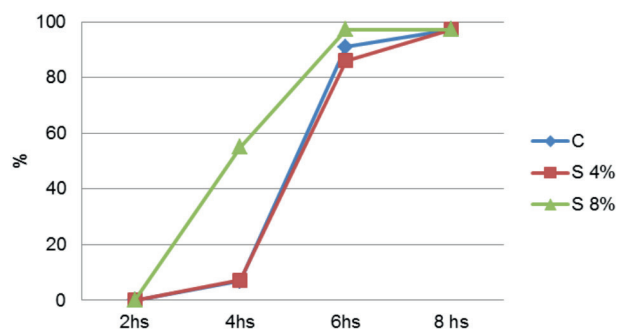


Figura 1. Velocidade de germinação de conídios da linhagem Bimeth, dos grupos Controle (C) e dos Tratamentos com o Suco comercial, nas concentrações de 4% (S4) e 8% (S8), nos tempos 2, 4, 6 e 8 horas.

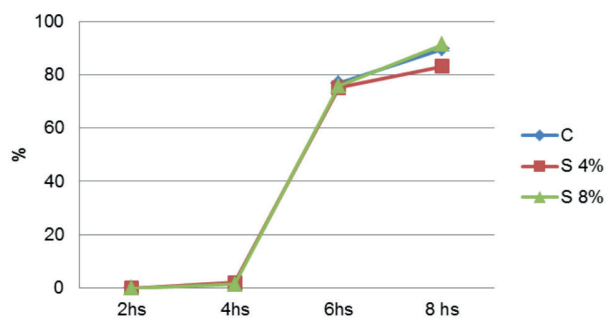


Figura 2. Velocidade de germinação de conídios da linhagem MSE, dos grupos Controle (C) e dos Tratamentos com o Suco comercial, nas concentrações de 4% (S4) e 8% (S8), nos tempos 2, 4, 6 e 8 horas.

Conforme a figura 3, na linhagem CLB3 tanto os dados de S4% como de S8% apresentaram-se estatisticamente significativos em relação ao controle, na leitura de 6 horas, visto que induziram e aceleraram a germinação dos conídios.

A figura 4 apresenta os conídios mortos e malformados nas linhagens Bimeth, MSE e CLB3. Em relação ao percentual de conídios mortos na linhagem Bimeth, os resultados obtidos das duas concentrações testadas do suco foram estatisticamente significativos, em relação ao seu controle. Já na linhagem MSE, somente o suco na concentração de 8% foi estatisticamente significativo enquanto que, na linhagem CLB3, nenhum foi diferente estatisticamente do seu controle. Sobre os malformados, somente na linhagem CLB3 o grupo S4% apresentou diferenças, estatisticamente significativas, em relação ao controle. No entanto, em todas as linhagens tratadas com ambas as concentrações de suco, tanto os valores de esporos mortos, como de malformados, sofreram redução.

As tabelas 1 e 2 apresentam, respectivamente, os resultados referentes aos Índices de danos e à Frequência de danos do Ensaio Cometa. Tanto no Índice de danos (ID), como na Frequência de danos (FD), o grupo Controle, e as duas concentrações do suco comercial apresentaram diferenças estatisticamente significativas, quando comparado ao grupo Etoposido, nas coletas de 1h (1 hora) e de 24 h (24 horas) após a administração do Etoposido. A diferença do grupo Controle com o do Etoposido aponta a genotoxicidade do quimioterápico,

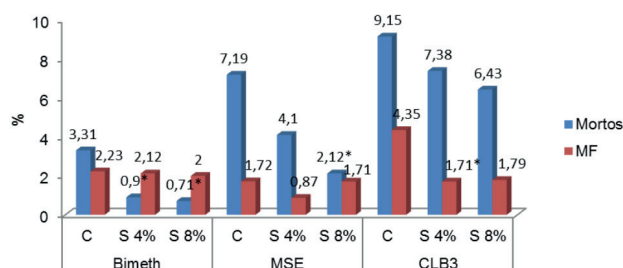


Figura 4. Percentual dos conídios mortos e malformados das linhagens Bimeth, MSE e CLB3, dos grupos Controle (C) e dos Tratamentos com o Suco comercial, nas concentrações de 4% (S4) e 8% (S8). * Resultado estatisticamente significativo em relação ao Controle.

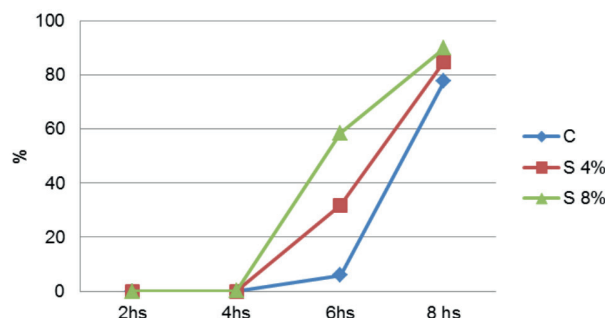


Figura 3. Velocidade de germinação de conídios da linhagem CLB3, dos grupos Controle (C) e dos Tratamentos com o Suco comercial, nas concentrações de 4% (S4) e 8% (S8), nos tempos 2, 4, 6 e 8 horas.

assim como as diferenças dos dois tratamentos do suco com o Etoposido, demonstram o potencial antigenotóxico dos mesmos. Além disso, ambos não foram diferentes do controle, tanto para o FD como para o ID, o que evidencia a não genotoxicidade das duas concentrações do suco empregadas. As coletas de sangue realizadas antes da administração do etoposido ou salina, foram realizadas para observar se o estresse causado na manipulação dos animais ou o tratamento com o suco poderiam causar alterações significativas, entretanto, nenhuma evidência foi observada.

A tabela 3 apresenta os resultados do sistema *methG1*, em que pode ser observado que somente o suco comercial na concentração de 8% foi antimutagênico. Os valores obtidos no teste estatístico sugerido por Munson e Goodhead (1977) para o S4 foram: $m' = 3,88$; $m'' = 7,22$; $mc = 1,22$ e para S8: $m' = 2,14$; $m'' = 4,29$; $mc = 6,13$.

DISCUSSÃO

O potencial mutagênico da *A. vera* foi avaliado por Ruiz *et al.* (1996) e Parra *et al.* (2000), em ensaios utilizando segregação mitótica em *A. nidulans* e por meio do teste de micronúcleos (MN) na medula óssea de ratos, em

Tabela 1. Índice de danos (ID) dos grupos Controle negativo (C), Etoposido (ETO), Suco comercial [1] + etoposido (S1+ETO) e Suco comercial [2] + etoposido (S2+ETO).

Tratamento	ID 1 h	ID 24 h
C	6,4 ± 2,97*	1,4 ± 1,52*
ETO	170,4 ± 57,50	104 ± 41,20
S1 + ETO	24,6 ± 9,78*	12,2 ± 5,16*
S2 + ETO	27,2 ± 19,04*	12,8 ± 5,4*

*Resultado estatisticamente significativo em relação ao ETO.

Tabela 2. Frequência de danos (FD) dos grupos Controle negativo (C), Etoposido (ETO), Suco comercial [1] + etoposido (S1+ETO) e Suco comercial [2] + etoposido (S2+ETO).

Tratamento	ID 1 h	ID 24 h
C	3,8 ± 1,3*	0,8 ± 0,45*
ETO	79,2 ± 19,84	54,4 ± 17,82
S1 + ETO	13,4 ± 4,03*	5 ± 1,58*
S2 + ETO	13,8 ± 10,16*	5,2 ± 1,64*

*Resultado estatisticamente significativo em relação ao ETO.

Tabela 3. Resultados obtidos no sistema *methG1* do Controle (C) e dos Tratamentos com o Suco comercial, nas concentrações de 4% (S4) e 8% (S8).

Experimento	Tratamento	Número de conídios viáveis x 10 ⁵ / mL	Número de mutantes/ mL	Número de mutantes / 10 ⁶ conídios viáveis
1	C	71,39	29	4,06
	S4	30,64	23	7,50
	S8	41,88	26	6,21
2	C	113,74	33	2,90
	S4	56,67	45	7,94
	S8	60,63	14	2,31
3	C	40,12	57	14,2
	S4	37,82	29	7,77
	S8	41,1	18	4,38
Média	C	75,08	39,66	7,05
	S4	41,71	32,33	7,77
	S8	47,87	19,33	4,29

diferentes concentrações. Em ambas as investigações não foram observadas citotoxicidade nem mutagenicidade dos extratos, fornecendo respaldo na segurança do seu uso quanto ao potencial terapêutico para o homem, assim como o presente estudo, em que os resultados das coletas sanguíneas, realizadas antes das administrações intraperitoneais nos animais, não apresentaram genotoxicidade.

Em outro trabalho, realizado por Sturbelle *et al.* (2010), a *A. vera* por meio do teste de MN em linfócitos binucleados humanos e do teste em *Allium cepa* não apresentou efeito mutagênico e ainda, se comportou como antimutagênica quando adicionada junto ao mutágeno paracetamol.

Corroborando os resultados deste estudo, em que foi detectado que as duas concentrações testadas do suco comercial foram antígeno-tóxicas no Ensaio Cometa, Düsman (2007), detectou a atividade antimutagênica da *A. vera* em relação ao quimioterápico ciclofosfamida, pela redução das aberrações cromossômicas em ratos Wistar, bem como a ativação do sistema de reparo, semelhantes aos dados obtidos por Kim & Lee (1997) e Yoo & Lee (2005) com extratos de *A. vera*, em relação ao carcinógeno benzo(a)pireno.

Tendo em vista a estreita relação entre a carcinogenicidade e mutagenicidade, estudos vêm sendo realizados dando enfoque ao potencial antitumoral de produtos naturais, especialmente as plantas medicinais. Dessa forma, Tomasin & Gomes-Marcondes (2010) detectaram efeitos positivos da *A. vera* e mel, em estudo *in vivo*, em relação ao câncer em ratos Wistar, tais como o controle do crescimento do tumor, redução da proliferação das células e aumento de ocorrência de apoptose em células cancerosas.

Yu *et al.* (2009) examinaram os efeitos de polissacarídeos da *A. vera*, em ratos Wistar, em relação à úlceras orais e observaram um aumento da atividade imunológica e uma eficaz ação antioxidante, sugerindo que esses polissacarídeos melhoram o sistema imunológico e atuam na supressão de injúrias oxidativas em úlceras.

Segundo Toliopoulos *et al.* (2012), a *A. vera* é capaz de aprimorar o sistema imunológico, uma vez que aumentou a citotoxicidade de células NK (natural killer) contra células cancerígenas em pesquisas *in vitro*, como também aumentou a citotoxicidade de células NK em amostras sanguíneas de voluntários que ingeriram o suco de *A. vera* durante 45 dias.

As inúmeras atividades biológicas atribuídas à *A. vera*, tais como as descritas no presente estudo, devem-se especialmente a combinação dos diversos ativos existentes em sua composição (Freitas *et al.* 2014). Ozsoy *et al.* (2009) identificaram a presença de vários antioxidantes naturais como flavonóides, ácido ascórbico, β -caroteno e α -tocoferol. Além disso, já foram descritos que a aloína, aloe-emodina e a acemanana possuem atividades antitumorais (Freitas *et al.* 2014). Vale destacar que pode ocorrer uma indução de apoptose provocada pelas antraquinonas, eliminando assim células mutadas (Esmat *et al.* 2006), bem como a estimulação do sistema imune, aliada a uma marcante atividade antioxidante, o que resultaria em efeito antiproliferativo de células tumorais.

Diferentemente do encontrado no Ensaio Cometa, os dados referentes ao experimento do Sistema *methG1* apresentaram relação dose-resposta, visto que apenas a maior concentração do suco comercial apresentou efeito antimutagênico. Assim, como o encontrado neste estudo, outros trabalhos empregando produtos naturais no sistema *methG1* obtiveram resultados positivos, tais como a investigação de Rodrigues *et al.* (2003), que confirmou a antimutagenicidade do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) e de Souza-Paccola *et al.* (2004), abrangendo os cogumelos *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei*, conhecidos por suas propriedades medicinais e nutricionais, com atividade antitumoral, antimicrobiana e antiviral.

Devido à estreita relação dos processos que envolvem a ação antimutagênica/antigenotóxica e antioxidante e, de acordo com os resultados dos vários trabalhos envolvendo esses dois fenômenos que atuam protegendo e/ou reparando as células (Ziech *et al.* 2012), o potencial antioxidante da *A. vera* vem sendo vastamente pesquisado, como o descrito por Hu *et al.* (2003), que confirmaram a ação antioxidante dos polissacarídeos e flavonóides provenientes dessa planta.

Essas várias pesquisas descrevendo a intensa atividade antioxidante da *A. vera* podem ser relacionadas com os resultados do presente trabalho, em que foi observado um estímulo na germinação de *A. nidulans*, em todas as linhagens testadas normais e mutantes (exceto linhagem MSE). Especificamente, na linhagem CLB3, que é mutante para crescimento, as duas concentrações aceleraram a germinação dos conídios. Ainda, foi detectada a redução de conídios mortos e malformados em todas as linhagens, quando tratados com o suco comercial de *A. vera*. Tendo em vista que cada fase do desenvolvimento da germinação é marcada por um conjugado de eventos morfogenéticos (D'Enfert 1997), pode-se inferir que os componentes antioxidantes da *A. vera* atuaram como protetores sobre os mecanismos de controle da expressão

gênica e dos mecanismos de preservação da homeostase.

Inúmeras são as qualidades descritas da *A. vera* e, dessa forma, Choi & Chung (2003) delinearão um estudo baseado nos seus componentes e seus respectivos efeitos biológicos, em que os componentes isolados como as glicoproteínas, antraquinonas e sacarídeos foram relacionados com diversos benefícios já comprovados cientificamente. Entre os constituintes dessa planta, destacam-se os polissacarídeos acemanan e glicomannan, que atuam como imunomoduladores, enquanto a antraquinona aloe-emodina é apontada como a principal responsável pelas atividades anticâncer (Pecere *et al.* 2000, Lissoni *et al.* 2009).

Desse modo, os resultados do presente trabalho apoiam os subsídios científicos sobre as propriedades benéficas da *A. vera*, indicando seu uso como forma de prevenção e manutenção da saúde.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos para a primeira autora. À equipe do Laboratório de Genética Molecular e do Desenvolvimento da Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

- AFMAN, L. & MÜLLER, M. 2006. Nutrigenomics: From Molecular Nutrition to Prevention of Disease. *Journal of American Dietetic Association*, 106: 569-576.
- BIRAL, A.R. 2002. *Radiações ionizantes para médicos, físicos e leigos*. Florianópolis: Editora Insuls Ltda.
- BROWN, T.A. 1999. *Genética um enfoque molecular*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan.
- CHITHRA, P., SAJITHLAL, G.B. & CHANDRAKASAN, G. 1998. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 59: 195-201.
- CHOI, S. & CHUNG M. 2003. A Review on the relationship between *Aloe vera* components and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine*, 1(1):53-62.
- CLUTTERBUCK, A.J. 1974. *Aspergillus nidulans*. In: KING, R.C. (ed) *Handbook of Genetics*. New York: Plenum Publishing. p. 447-510.
- D'ENFERT, C. 1997. Fungal spore germination: insights from the molecular genetics of *Aspergillus nidulans* and *Neurospora crassa*. *Fungal Genetics and Biology*, 21: 163-172.
- DAVID, J.P., SILVA, E.F., MOURA, D.L., GUEDES, M.L.S., ASSUNÇÃO, R.J. & DAVID, J.M. 2001. Lignanas e triterpenos do extrato citotóxico de *Eriope blanchetii*. *Química Nova*, 24(6):730-733.
- DÜSMAN, E., BERTI, A.P., SOARES, L.C. & VICENTINI, V.E.P. 2012. Principais agentes mutagênicos e carcinogênicos de exposição humana. *Revista Saúde e Biologia*, 7(2):66-81.
- DÜSMAN, E. 2007. *Estudo da atividade antimutagênica da planta Babosa (Aloe vera L.), em ratos Wistar*. 40f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.
- ESMAT, A.Y., TOMASETTO, C. & RIO, M.C. 2006. Cytotoxicity of a natural anthraquinone (aloin) against human breast cancer cell lines with and without Erb-2-Topoisomerase IIa coamplification. *Cancer Biology & Therapy*, 5(1): 97-103.
- ESTÉCIO, M.R. & SILVA, A.E. 2002. Alterações cromossômicas causadas pela radiação dos monitores de vídeo de computadores. *Revista Saúde Pública*, 36(3): 330-336.
- FENECH, M., EL-SOHEMY, A., CAHILL, L., FERGUSON, L.R., FRENCH, T.A., TAI, E.S., MILNER, J., KOH, W.P., XIE, L., ZUCKER, M., BUCKLEY, M., COSGROVE, L., LOCKETT, T., FUNG, K.Y. & HEAD, R. 2011. Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the Current Status and Applications in Nutrition Research and Practice. *Journal Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 4:69-89.
- FREITAS, V.S., RODRIGUES, R.A.F. & GASPI, F.O.G. 2014. Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Burm. f. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16(2): 299-307.
- HU, Y., XU, J. & HU, Q. 2003. Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* miller) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7): 7788-91.
- KIM, H.S. & LEE, B.M. 1997. Inhibition of benzo[a]pyrene-DNA adduct formation by *Aloe barbadensis* Miller. *Carcinogenesis*, 18(4): 771-776.
- LISSONI, P., ROVELLI, F., BRIVIO, F., ZAGO, R., COLCIAGO, M., MESSINA, G., MORA, A. & PORRO, G. 2009. A Randomized Study of Chemotherapy Versus Biochemotherapy with Chemotherapy plus *Aloe arborescens* in Patients with Metastatic Cancer. *in vivo*, 23: 171-176.
- LOUREIRO, A.P.M., MASCIO, P.D. & MEDEIROS, M.H.G. 2002. Formação de adutosexocíclicos com bases de DNA: Implicações em mutagenese e carcinogenese. *Química Nova*, 25(5): 777-793.
- MENDONÇA, F.A.S., PASSARINI JUNIOR, J.R., ESQUISATTO, M.A.M., MENDONÇA, J.S., FRANCHINI, C.C. & SANTOS, G.M.T. 2009. Effects of the application of *Aloe vera* (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 24(2):150-155.
- MISAWA, E., TANAKA, M., NOMAGUCHI, K., YAMADA, M., TOIDA, T., TAKASE, M., IWATSUKI, K. & KAWADA, T. 2008. Administration of phytosterols isolated from *Aloe vera* gel reduce visceral fat mass and improve hyperglycemia in Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. *Obesity Research and Clinical Practice*, 2:239-245.
- MUNSON, R.J. & GOODHEAD, D.T. 1977. The relation between induced mutation frequency and cell survival – a theoretical approach and examination of experimental data for eukariotes. *Mutation Research*, 42: 145-160.
- OJHA, S., PANDEY, M., SARAF, S. & SONKER, K. 2011. *Aloe vera* gel: A potent nutraceutical. *Journal of Natural Pharmaceuticals*, 21: 36-41.
- OLIVEIRA, S.H.S., SOARES, M.J.G.O. & ROCHA, O.S. 2010. Uso de cobertura com colágeno e aloe vera no tratamento de ferida isquêmica: estudo de caso. *Revista Escola Enfermagem USP*, 44(2): 346-351.
- OZSOY, N., CANDOKEN, E. & AKEV, N. 2009. Implications for degenerative disorders - Antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene and α -tocopherol in *Aloe vera*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(2):99-106.
- PARRA, A.V., RUIZ, A.R., LÓPEZ, A.G., FERRER, J.P. & GONZÁLEZ, V.P. 2000. Estudio genotóxico *in vitro* e *in vivo* Del extracto fluido de *Cassia grandis* L. y el gel de *Aloe vera* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinais*, 5(3): 91-96.
- PECERE, T., GAZZOLA, M.V., MUCIGNAT, C., PAROLIN, C., VECCHIA, F.D., CAVAGGIONI, A., BASSO, G., DIASPRO, A., SALVATO, B., CARLI, M. & PALU, G. 2000. Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors. *Cancer Research*, 60: 2800-2804.
- PONTECORVO, G., ROPER, J.A., HEMMONS, L.M., MACDONALD, K.D. & BUFTON, A.W.J. 1953. The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in Genetics*, 5:141-238.
- RAJASEKARAN, S., SIVAGNANAM, K., RAVI, K., & SUBRAMANIAN, S. 2004. Hypoglycemic Effect of *Aloe vera* Gel on Streptozotocin-Induced Diabetes in Experimental Rats. *Journal of Medicinal Food*, 7(1):61-66.
- RIBEIRO, L.R. & MARQUES, E.K. 2003. A importância da mutagenese ambiental na carcinogenese humana. In: RIBEIRO, L.R., SALVADORI, D.M.F. & MARQUES, E.K. *Mutagenese Ambiental*. Canoas: Ed. ULBRA. p. 21-27.

- ROCHA, C. L. M. S. C. 1997. *Caracterização citológica, genética e Molecular de um mutante para a conidiogênese em Aspergillus nidulans*. 203f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.
- RODRIGUES, S.B, JABOR, I.A.S., MARQUES-SILVA, G.G.& ROCHA, C.L.M.S.C. 2003. Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) no sistema *methG1* em *Aspergillus (=Emericella) nidulans*. *Acta Scientiarum Agronomy*, 25(2): 513-517.
- RUIZ, A.R., ARMENTEROS, A.E., GONZÁLEZ, A.V., PARRA, A.V. & MARTÍNEZ, M.J. 1996. Evaluacion genotóxica de un extracto acuoso de *Aloe vera* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1(2):18-23.
- SCOTT, B.R., DORN, G.L., KÄFER, E. & STAFHOOD, R. 1982. *Aspergillus nidulans*: Systems and results of tests for induction of mitotic segregation and mutation. II. Haploid assay systems and overall response of all systems. *Mutation Research*, 98: 49-94.
- SINGH, N.P., MCCOY, M.P., TICE, R.R. & SCHNEIDER, E.L. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175: 184-191.
- SINGH, R.P., DHANALAKSHMI, S. & RAO, A.R. 2000. Chemomodulatory action of *Aloe vera* on the profiles of enzymes associated with carcinogen metabolism and antioxidant status regulation in mice. *Phyto-medicine*, 7(3):209-19.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2005. *Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. São Paulo: Editora Plantarum. 640 p.
- SOUZA-PACCOLA, E.A., BOMFETI, C.A., FÁVARO, L.C.L., FONSECA, I.C.B. & PACCOLA-MEIRELLES, L.D. 2004. Antimutagenic action of *Lentinula Edodes* and *Agaricus Blazei* on *Aspergillus nidulans* conidia. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 311-315.
- STURBELLE, R. T., PINHO, D.S., RESTANI, R.G., OLIVEIRA, G.R., GARCÍAS, G.L. & MARTINO-ROTH, M.G. 2010. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(3):409-415.
- SURJUSHE, A., VASANI, R. & SAPLE, D.G. 2008. *Aloe vera*: A short review. *Indian Journal of Dermatology*, 53(4):163-166.
- TICE, R.R., AGURELL, E., ANDERSON, D., BURLINSON, B., HARTMANN, A., KOBAYASHI, H., MIYAMAE, Y., ROJAS, E., RYU, J.C. & SASAKI, Y.F. 2000. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35: 206-221.
- TOLIOPOULOS, I., SIMOS, Y., VERGINADIS, I., OIKONOMIDIS, S. & KARKABOUNAS, S. 2012. NK cell stimulation by administration of vitamin C and *Aloe vera* juice *in vitro* and *in vivo*: A pilot study. *Journal of Herbal Medicine*, 2: 29-33.
- TOMASIN, R. & MARCONDES, M.C.C.G. 2011. Oral administration of *Aloe vera* and honey reduces walker tumour growth by decreasing cell proliferation and increasing apoptosis in tumour tissue. *Phytotherapy Research*, 25(4): 619-623.
- YOO, E.J. & LEE, B.M. 2005. Chemopreventive effects of *Aloe* against genotoxicity induced by benzo[a]pyrene. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 68:1841-1860.
- YU, Z., JIN, C., XIN, M. & JIANMIN, H. 2009. Effect of *Aloe vera* polysaccharides on immunity and antioxidant activities in oral ulcer animal models. *Carbohydrate Polymers*, 25:307-311.
- ZIECH, D., ANESTOPOULOS, I., HANAFI, R., VOULGARIDOU, G.P., FRANCO, R., GEORGAKILAS, A.G., PAPPAS, A. & PANAYIOTIDIS, M.I. 2012. Pleiotrophic effects of natural products in ROS-induced carcinogenesis: The role of plant-derived natural products in oral cancer chemoprevention. *Cancer Letters*, 327: 16-25.