

Avaliação das atividades genotóxica e antígenotóxica do óleo de cártamo (*Carthamus Tinctorius*)

EVALUATION OF THE GENOTOXIC AND ANTIGENOTOXIC ACTIVITIES OF SAFFLOWER OIL (CARTHAMUS TINCTORIUS)

RESUMO: Objetivos: Este estudo objetivou investigar suas possíveis atividades genotóxica e antígenotóxica. Material e Métodos: Para avaliar a genotoxicidade e a antígenotoxicidade foram realizados ensaios “in vivo” na medula óssea hematopoiética de camundongos através do teste de micronúcleo. No teste, foram utilizadas doses de, 500, 1.000 e 1.500 mg.kg⁻¹. Resultados: Não foi observada atividade genotóxica nas doses de 500 e 1.000 mg.kg⁻¹, uma vez que o número de micronúcleos foi menor ($p < 0,05$) em relação ao controle positivo DXD (DXR). Entretanto, na dose de 1.500 foi observado o efeito genotóxico, pois os valores de micronúcleos detectados foram semelhantes aos do controle positivo. Conclusão: Diante da técnica e condições empregadas, as conclusões deste estudo reforçam que o óleo de cártamo apresenta ausência de genotoxicidade nas doses de 500 e 1.000 mg.kg⁻¹. No entanto, deve ser consumido moderadamente por conta da atividade genotóxica encontrada em doses elevadas.

Palavras-chave: *Carthamus tinctorius*; Óleo de cártamo; Genotoxicidade; Mutagênese; Teste do micronúcleo.

ABSTRACT: Objectives: This study aimed to investigate its possible genotoxic and antigenotoxic activities. **Material and Methods:** To evaluate genotoxicity and antigenotoxicity, in vivo tests were performed on the hematopoietic bone marrow of mice using the micronucleus test. In the test, doses of 500, 1,000 and 1,500 mg.kg⁻¹ were used. **Results:** No genotoxic activity was observed at doses of 500 and 1,000 mg.kg⁻¹, since the number of micronuclei was lower ($p < 0.05$) than the positive control DXD (DXR). However, at the dose of 1500 the genotoxic effect was observed, since the micronucleus values detected were similar to those of the positive control. **Conclusion:** Given



Lucas Rodrigues Sampaio¹
Maria Alice Montes de Sousa²
Paulo Roberto de Melo Reis³
Susy Ricardo Lemes Pontes⁴

^{1,2,3} Pontifícia Universidade Católica de Goiás
⁴ Faculdade União de Goyazes

Correspondente

susy.pontes@fug.edu.br

Rodovia GO-060, 3184 - Laguna Park - Vila Emanuel, Trindade - GO, 75380-000



Recebido: 18.11.2019 | Aprovado: 27.12.2019

the technique and conditions employed, the conclusions of this study reinforce that safflower oil presents no genotoxicity at doses of 500 and 1,000 mg.kg-1. However, it should be consumed moderately because of the genotoxic activity found in high doses.

Keywords: *Carthamus tinctorius, Safflower oil, Genotoxicity, Mutagenesis, Micronucleus test.*

INTRODUÇÃO

As mutações de ocorrência natural representam uma grande força que impulsiona a evolução tornando-as intensamente significativas na diversidade genética de várias espécies de seres vivos. No entanto, elas ocorrem em uma taxa extremamente lenta. As variações genéticas induzidas artificialmente representam uma importante variação suplementar em programas de melhoramento de plantas complementares de fontes de origem natural¹.

As plantas são conhecidas por conter inúmeros compostos biologicamente ativos e, embora tenham propriedades farmacológicas, também podem causar danos, incluindo danos ao DNA. Alguns fitoterápicos podem ser extremamente tóxicos para a saúde humana. Estudos foram realizados e revelaram que várias plantas utilizadas na medicina popular são potencialmente genotóxicas. Devido a isso, é extremamente importante testar a genotoxicidade dos fitoterápicos para avaliar seu potencial mutagênico ou modulação de genotoxicidade quando associada a outras substâncias^{2,3}.

A investigação e a descoberta de propriedades antioxidantes, antimutagênicas ou anticancerígenas das plantas são de grande relevância para a terapêutica, pois os alimentos e plantas medicinais podem ser importantes para o mecanismo de defesa do corpo fazendo com que ocorra uma proteção contra os danos causados pelos radicais livres⁴.

Partindo desse pressuposto, a planta *Carthamus tinctorius* (CT) tornou-se o objeto desse estudo. O CT pertence à família Asteraceae, apresenta resistência a condições adversas, sendo cultivado em todo o mundo devido suas fontes medicamentosas⁵. Na medicina tradicional chinesa, as pétalas da planta possuem propriedades medicinais que são utilizadas na terapêutica das enfermidades do homem⁶.

As sementes podem chegar a 50% de teor de óleo. O óleo tem qualidade aprovada tanto para consumo humano quanto para a indústria. A semente do CT é uma das fontes de azeites comestíveis mais apreciadas pelos consumidores ao redor do mundo, o qual, não se oxida facilmente e não causa aumento de colesterol no sangue⁷.

Pesquisas realizadas com o consumo do óleo de cártamo têm sido exploradas e demonstraram que o mesmo é benéfico à saúde. Devido ao seu uso popular, o presente estudo tem como objetivo avaliar as atividades genotóxica e antígenotóxica do óleo, através do teste de micronúcleo.

MATERIAL E MÉTODOS

Óleo extraído do *Carthamus tinctorius*

O óleo extraído do *Carthamus tinctorius* foi adquirido comercialmente (lote nº: 1085747, com validade em setembro de 2018) por Colbras Indústria e Comércio Ltda, CNPJ Nº: 00.413.925/0001-64, com sede em Cotia-SP, sob responsabilidade técnica de Dra. Fernanda Cerveira Ernica, inscrito no Conselho de Farmácia – SP 37.702.

A atividade genotóxica do óleo de cartamo foi avaliada mediante realização de testes laboratoriais “in vivo”, utilizando como modelo experimental a medula óssea hematopoiética de camundongos. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos do Mestrado de Ciências Ambientais e Saúde (MCAS) e do Mestrado em Genética, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

Camundongos

Foram utilizados 48 camundongos machos heterogênicos saudáveis, da espécie *Mus musculus* “out bread” linhagem Swiss Webster, oriundos do Biotério da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, apresentando peso corpóreo entre 30 e 40 gramas e faixa etária entre 45 e 60 dias no dia do experimento.

Testes e controles

Foram preparadas diluições a partir do óleo de cártamo nas doses de 500, 1.000 e 1.500 mg.kg⁻¹. Utilizou-se como veículo diluidor e controle negativo o óleo soja, e como controle positivo, solução aquosa de Doxorubicina (DXD) na dose de 2,0 mg.kg⁻¹.

Cada grupo foi constituído por 06 camundongos *Mus musculus* para os ensaios pretendidos:

- 1 – Grupo Teste da mutagenicidade – 18 camundongos.
- 2 – Grupo Teste da antimutagenicidade – 18 camundongos.
- 3 – Grupo controle positivo – 6 camundongos.
- 4 – Grupo controle negativo – 6 camundongos.

Totalizando 48 animais.

Procedimento experimental do teste de micronúcleo

Cada grupo foi constituído por 6 camundongos albinos *Mus Musculus* que foram tratados, intraperitoneal, com as doses de 500, 1.000 e 1.500 mg.kg⁻¹ do óleo do *Carthamus tinctorius* para a avaliação da genotoxicidade. O grupo controle negativo foi tratado com óleo de soja puro, enquanto que o grupo controle positivo recebeu dose única intraperitoneal de 2 mg.kg⁻¹, de DXD. Para a avaliação da antimutagenicidade, foram administradas as doses de 500, 1.000 e 1.500 mg.kg⁻¹ do óleo do *Carthamus tinctorius*, concomitantemente com dose de 2 mg.kg⁻¹ de DXD

Após 24 horas, os camundongos foram submetidos à anestesia por Tiopental (30 mg.kg⁻¹), em seguida, realizou-se a eutanásia por deslocamento cervical. Os fêmures foram retirados, as epífises do fêmur foram seccionadas e a medula óssea foi lavada com 01 ml de soro fetal bovino. Após homogeneização da medula no soro, a centrifugação foi feita a 1.000 RPM por 5 minutos e o sobrenadante parcialmente descartado. O precipitado de células foi homogeneizado com pipeta de Pasteur. Uma gota de suspensão celular foi transferida para a lâmina de vidro onde foi confeccionado o esfregaço das células da medula óssea hematopoiética. Após a secagem das lâminas, foi feita a fixação das mesmas em metanol absoluto durante 05 minutos e a coloração em solução Corante de Giemsa tamponada, com pH de 6,8 por um período de 15 minutos⁸. As lâminas foram lavadas em água corrente e deixadas secar em temperatura ambiente.

A confecção dos esfregaços e análise das lâminas coradas e secas foi realizada pelo procedimento “duplo-cego”, avaliando-se a quantidade de eritrócitos policromáticos micronucleados em 2.000 eritrócitos

RESULTADOS

Na avaliação da genotoxicidade foi observado que as doses de 500 e 1.000 mg.kg⁻¹, do óleo de cártamo, não apresentaram atividade genotóxica e nem citotóxica. Nestas doses, não houve diferenças significativas (p>0,05) na frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNEPC) quando comparadas ao grupo controle negativo. Entretanto, a dose de 1.500 mg.kg⁻¹ foi genotóxica e citotóxica, pois houve diferença significativa quando comparada ao grupo controle negativo. Para a avaliação da citotoxicidade foi analisada a relação de eritrócitos policromáticos e normocromáticos (EPC/ENC) e comparada ao controle negativo (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de MN/2000 EPC e relação entre EPC/ENC após 24 horas do tratamento com óleo de cártamo em 03 doses e controles.

Doses do óleo de cártamo (mg.kg ⁻¹ peso corporal)	Nº de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (MNEPC)		RELAÇÃO EPC/ENC MÉDIA ± DP
		Dados Individuais MN /2000EPC	MN/2000 EPC Média ± DP	
500	6	5-3-3-4-3-3 ^a	3.5 ± 0,89 ^a	0.75 ± 0,14 ^c
1000	6	4-5-3-4-5-6 ^a	4.5 ± 0,84 ^a	0.72 ± 0,18 ^c
1500	6	13-14-11-12-10-11 ^b	11.8 ± 1,58 ^b	0.69 ± 0,05 ^d
Óleo de soja (controle negativo) *	6	2-3-2-2-3-1 ^a	2.2 ± 0,55 ^a	0.92 ± 0,08 ^c
DXD (controle positivo) **	6	25-27-18-16-24-20	21.7 ± 4,74	0.48 ± 0,11

^a P> 0,05 ; ^b P<0,05; ^c P>0,05; ^d P<0,05. Todos os resultados foram comparados com o grupo controle negativo. O valor de P menor que 0,05 (p<0,05) foram considerados indicativos de significância.

* Controle negativo: óleo de soja; ** Controle Positivo: DXD (2mg.kg⁻¹ peso corporal).

Na avaliação da antigenotoxicidade foi observado que as diversas doses (500, 1.000 e 1.500 mg.kg⁻¹) do óleo do *Carthamus tinctorius* administradas concomitantemente com DXD (2 mg.kg⁻¹) não apresentaram atividades antigenotóxica e nem anticitotóxica, pois quando comparadas aos eritrócitos policromáticos micronucleados e aos respectivos testes, não houve diferença entre eles. O óleo do *Carthamus tinctorius* não interferiu na ação genotóxica da DXD. O mesmo também foi observado na atividade anticitotóxica, o óleo de cártamo não interferiu no efeito citotóxico da DXD (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência de MN/2000 EPC e relação entre EPC/ENC após tratamento simultâneo com DXD em 03 doses do óleo cártamo e controles.

Doses do óleo cártamo (mg.kg ⁻¹ peso corporal) e DXD (mg.kg ⁻¹ peso corporal)	Nº de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (MNEPC)		RELAÇÃO EPC/ENC MÉDIA ± DP
		Dados Individuais MN /2000EPC	MN/2000EPC Média ± DP	
500 + 2	6	10-11-15-12-9-12	11.5 ± 2,07 ^a	0.67 ± 0,13 ^c
1000 + 2	6	13-12-15-12-15-15	13.7 ± 1,51 ^a	0.66 ± 0,09 ^c
1500 + 2	6	14-11-18-17-13-19	15.3 ± 3,14 ^a	0.55 ± 0,11 ^c
Óleo de soja (controle negativo)*	6	2-3-2-2-3-1	2.2 ± 0,55	0.92 ± 0,08
DXD (controle positivo) **	6	25-17-18-16-24-10	18.3 ± 4,18	0.48 ± 0,11 ^d

^a P> 0,05; ^b P<0,05; ^c P>0,05; ^d P<0,05. Todos os resultados foram comparados com o Grupo controle positivo

DISCUSSÃO

Os resultados do teste de micronúcleo apresentaram a ausência de atividades mutagênica e citotóxica do óleo de cártamo nas doses de 500 e 1.000 mg.kg⁻¹. Não foi observado aumento na frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos, quando comparados ao grupo controle negativo. Também não houve diferença significativa na comparação da frequência EPC/EPN. Outros estudos evidenciam a ausência de efeitos mutagênicos e citotóxicos pelo teste do micronúcleo entre diferentes óleos vegetais.^{2,10}

Na dose de 1.500 mg.kg⁻¹, os resultados do teste indicaram a presença das atividades mutagênica e citotóxica, constatando diferença significativa em comparação ao grupo controle negativo. Alguns estudos também revelam efeito mutagênico e citotóxico de óleos vegetais, como da *Artemisia ciniformis*.^{11,12}

Neste estudo, não foram encontradas pesquisas que testaram o potencial mutagênico e antimutagênico do óleo de cártamo com doses acima de 1.000 mg.kg⁻¹. Mas, nas condições desse experimento, foi constatada a atividade mutagênica do óleo. Portanto, o óleo de cártamo em doses elevadas, acima de 1.000 mg deve ser utilizado com cautela pela população em geral.

A atividade antimutagênica do óleo de cártamo na dose de 1.500 mg.kg⁻¹, verificada neste estudo, pode ser explicada em virtude de seu potencial antioxidante. O óleo de cártamo contém alta proporção de ácidos graxos poli-insaturados, tais como o ácido linoleico e o tocoferol. Em menor proporção, o óleo também possui ácidos graxos saturados, como os ácidos palmítico e esteárico. No geral, os ácidos oleico, linoleico, esteárico e palmítico são os principais ácidos graxos constituintes do óleo de cártamo, representando entre 96 e 99% do total de gordura.¹³ Uma pesquisa revelou que estes ácidos possuem atividade antioxidante.¹⁴

Ressalta-se que a Doxorrubicina, controle positivo usado neste estudo, é uma substância quimioterapêutica que pertence à classe das antraciclina e seu mecanismo de dano ao material genético pode ocorrer por stress oxidativo, gerando radicais livres como o superóxido e peróxido de hidrogênio, os quais geram danos no DNA.² Neste sentido, a atividade antimutagênica do óleo de cártamo também pode estar associada à inibição do estresse oxidativo gerado pela DXR.

CONCLUSÕES

Mediante as condições metodológicas aplicadas neste estudo, concluiu-se que o óleo extraído da semente do *Carthamus tinctorius* apresentou atividade genotóxica na dose de 1.500 e atividade antigênica nas doses de 500 e 1.000 mg.kg⁻¹ diante dos efeitos genotóxicos provocados pela Doxorrubicina. Outros estudos referentes ao mecanismo de reparo do óleo de cártamo diante de substâncias genotóxicas devem ser conduzidos a fim de melhor e esclarecer este processo.

REFERÊNCIAS

1. Lu Y, Dai S, Gu A, Liu M, Wang Y, Luo S, Shen S. Microspore Induced Doubled Haploids Production from Ethyl Methanesulfonate (EMS) Soaked Flower Buds Is an Efficient Strategy for Mutagenesis in Chinese Cabbage. *Front Plant Sci.* 2016;7(1780).
2. Lemes SR, Silva CRE, Veras JH, Chen LC, LIMA RS, Perez CN, Sousa MAM, Melo-Reis PR, Silva Junior NJ. Presence of antigenotoxic and anticytotoxic effects of the chalcone 1E,4E-1-(4-chlorophenyl)-5-(2,6,-

- 6-trimethylcyclohexen-1-yl)penta-1,4-dien-3-one using in vitro and in vivo assays. *Drug Chem Toxicol.* 2018; 1-8.
3. Assunção LA, Lemes SR, Araújo LA, Costa CR, Magalhães LG, Moura KK, Melo-Reis PR. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and antigenotoxic activities of sucupira oil (*Pterodon emarginatus*). *Genet Mol Res.* 2015; 14 (2): 6323-6329.
 4. Boran R, Ugur A. The mutagenic, antimutagenic and antioxidant properties of *Hypericum lydiuum*. *Pharm Biol,* 2017; 55(1): 402-405.
 5. Androcioli HG, Hoshino AT, Pastório MA, Cardoso PC, Araújo PM, Fernandes TA, Menezes AO Jr. First Record of *Euphoria lurida* Fabricius (Coleoptera: Scarabaeidae) Injurious to Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) (Asterales: Asteraceae) in Brazil. *Neotrop Entomol.* 2017; 46(1): 130-132.
 6. Tu Y, Xue Y, Guo D, Sun L, Guo M. Carthami flos: a review of its ethnopharmacology, pharmacology and clinical applications. *Rev Bras Farmacogn.* 2015; 25(5): 553-566.
 7. Galant MB, Santos RF, Silva MA. Melhoramento de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). *Act Iguazu.* 2015; 4(1): 14-25.
 8. Lemes SR, Chaves DA, Silva-Júnior NJ, Carneiro CC, Chen-Chen L, Almeida LM, Gonçalves PJ, Melo-Reis PR. Antigenotoxicity protection of *Carapa guianensis* oil against mitomycin C and cyclophosphamide in mouse bone marrow. *An Acad Bras Ciênc.* 2017; 89: 2043-2051.
 9. Driss D, Kaoubaa M, Mansour RB, Kallel F, Abdelmalek BE, Chaabouni SE, Antioxidant, antimutagenic and cytotoxic properties of essential oil from *Corchorus olitorius* L. flowers and leaf, *Free Rad Antiox,* 2016; 6(1):34-43.
 10. Assunção LA, Lemes SR, Araújo LA, Costa CR, Magalhães LG, Moura KK, and Melo-Reis PR. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and antigenotoxic activities of sucupira oil (*Pterodon emarginatus*). *Genet Mol Res.* 2015; 14(2): 6323-6329.
 11. Taherkhani M. Chemical Constituents, Antimicrobial, Cytotoxicity, Mutagenic and Antimutagenic Effects of *Artemisia ciniformis*. *Iran J Pharm Res.* 2016; 15(3): 471-481.
 12. Ganaie HA, Ali N, Ganai BA, Bahir S. Antimutagenic activity of compounds isolated from *Ajuga bracteosa* Wall ex. Benth against EMS induced mutagenicity in mice. *Toxicol Rep.* 2018; 5:108-112.
 13. Khalid N, Khan RS, Hussain MI, Farooq M, Ahmad A, Ahmed I. A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient - A review. *Trends Food Sci Technol.* 2017; 66 (2017): 176-186.
 14. Kaplaner E, Singeç MH, Öztürk M. Fatty Acid Composition and Antioxidant Activity of *Tricholoma Imbricatum* and *T. Focale*. *TURJAF.* 2017; 5(9): 1080-1085.