

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE LÁTEX DE *Euphorbia heterophylla* L.

EVALUATION OF *Euphorbia heterophylla* L. LATEX TOXICITY

Thais Silva Pinto¹, Matheus Diniz Gonçalves Coêlho^{2,3*}, Lucas Tobias Rodrigues¹, Gokithi Akisue^{2,4}

¹ Curso de Farmácia, FUNVIC/Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, SP.

² Professor Doutor, Curso de Farmácia, FUNVIC/Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, SP.

³ Laboratório de Parasitologia e Malacologia (LAPAM) - FUNVIC/Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, SP.

⁴ Laboratório de Farmacognosia e Plantas Mediciniais (LAFAPLAM) - FUNVIC/Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, SP.

*Correspondência: profmatheuscoelho@gmail.com

RECEBIMENTO: 17/08/17 - ACEITE: 29/08/17

Resumo

O uso de látex de vegetais tem sido amplamente difundido em função das propriedades terapêuticas que algumas espécies latescentes possuem. Entre os vegetais latescentes diversas espécies do gênero *Euphorbia* têm se destacado por apresentarem atividade antimicrobiana, antitumoral e moluscicida. Por outro lado, existem espécies desse gênero das quais se dispõe de informações escassas a respeito de suas propriedades terapêuticas ou tóxicas, dentre as quais *Euphorbia heterophylla* Linnaeus, que é considerada uma planta daninha. Neste trabalho objetivou-se avaliar a toxicidade do látex de *E. heterophylla* por meio do uso do teste de *Allium cepa* Linnaeus. Alíquotas de látex foram diluídas nas concentrações de 10, 25 e 50 ppm e bulbos de *A. cepa* foram lavados, sendo suas raízes delicadamente retiradas. Os mesmos foram separados em grupos de seis e submetidos à submersão da área radicular ao látex de *E. heterophylla* nas concentrações supracitadas. Após 96 horas, os bulbos foram avaliados com relação ao número, comprimento e massa das raízes, bem como massa do bulbo. Observou-se não haver diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados obtidos nas diferentes diluições do látex e os do grupo controle, permitindo inferir que, nas diluições avaliadas, o látex de *E. heterophylla* não é considerado tóxico.

Palavras-chave: Látex. Toxicidade. *Allium cepa*. *Euphorbia heterophylla*.

Abstract

The use of vegetable's latex has been widely spread in function of the therapeutic properties that some latescent species have. Among the latescents vegetables several species of the genus *Euphorbia* have stood out for having antimicrobial, antitumor and molluscicide activity, on the other hand, there are species of this genus from which there is scarce information about the therapeutic or toxic properties, among which *E. heterophylla*, which is considered a weed. This study aimed to evaluate the toxicity of latex of *E. heterophylla* through the use of the *Allium cepa* test. Aliquots of the latex were diluted at concentrations of 10, 25 and 50 ppm for the realization of *Al. cepa* test. Therefore, the bulbs were washed and their roots gently removed. They were separated into groups of six and submitted the immersion of the root zone on latex of *E. heterophylla*. After 96 hours, the bulbs were examined with respect to the number, length and mass of roots and mass of the bulbs. There was no significant difference ($p > 0.05$) between the results obtained in the different dilutions of the latex and the control group, it can be inferred that the dilutions evaluated of the latex of *E. heterophylla* latex is not considered toxic.

Keywords: Latex. Toxicity. *Allium cepa*. *Euphorbia heterophylla*.

Introdução

Os látex de vegetais são mundialmente estudados a fim de desvendar suas possíveis atividades e funções úteis à humanidade. Com as descobertas das mais variadas utilidades do látex, de uma maneira geral, pôr o seu uso em prática pode trazer riscos, considerando-se o possível potencial tóxico de algumas espécies de vegetais latescentes, acarretando riscos para o ser humano e para o meio ambiente.

Diversos trabalhos têm apontado o uso de plantas latescentes para o controle de vetores de doenças, dentre as quais *Synadenium carinatum* e *Euphorbia splendens*, cujos látex e extratos obtidos das mesmas apresentaram uma elevada ação moluscicida para caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, que é o principal hospedeiro intermediário da esquistossomose.^{1,2}

No que concerne à atividade moluscicida, diversas espécies do gênero *Euphorbia* tem se destacado.³⁻⁵ Afonso Neto et al.⁵ afirmaram que *E. cotinifolia*, *E. milii* var. *splendens* e *E. tirucalli*, por exemplo, despertam atenção por sua destacada letalidade para caramujos aquáticos. Os mesmos autores verificaram que tal atividade também foi observada frente a caramujos terrestres, em baixas diluições. Cabe ressaltar, entretanto, que tais substâncias também podem apresentar elevado potencial tóxico para outras formas de vida no meio ambiente.⁶

Entre as espécies do gênero *Euphorbia*, *E. heterophylla* (planta leiteira) tem uma elevada distribuição geográfica, sendo inclusive considerada uma planta daninha e vários pesquisadores tentam desenvolver estratégias para eliminação dessa espécie.^{7,8} Por outro lado, tal espécie vegetal tem se destacado para uso no tratamento de processos patológicos dentre os quais, helmintíases e constipação⁹; artrite, reumatismo, e processos inflamatórios¹⁰; Em acréscimo, o látex do vegetal tem sido utilizado em infecções fúngicas e gonocócicas, assim como inseticida, dentre outros usos.¹¹

Tendo em vista o elevado espectro de uso de *E. heterophylla* bem como a atividade moluscicida de espécies desse gênero, é de interesse o delineamento de pesquisas que objetivem avaliar tal propriedade nesta espécie considerando-se sua elevada distribuição geográfica, porém sem deixar de avaliar sua toxicidade para o meio ambiente.

A toxicidade de uma substância pode ser determinada ao se expor alguma espécie de vida ao contato com a mesma, e observando-se os danos consequentes dessa exposição, inclusive o óbito, existindo a necessidade de comprovação, por meios

experimentais, para que tal substância seja classificada como tóxica.¹²

Para que a qualidade de contaminantes ambientais seja avaliada, sugere-se o uso de alguns organismos bioindicadores disponíveis para testes de toxicidade, e diversos estudos tem dado destaque ao teste com *A. cepa*, em função de sua aplicabilidade e reprodutibilidade.¹³

O teste com *A. cepa* tem sido considerado uma importante ferramenta para avaliação de toxicidade, particularmente no que concerne a genotoxicidade e citotoxicidade de produtos químicos, substâncias complexas como extratos de plantas, dejetos industriais e águas contaminadas. Por conta de sua elevada sensibilidade, baixo custo, rapidez e facilidade de manipulação o uso de *A. cepa* em testes de citotoxicidade tem sido bastante recomendado.¹³⁻¹⁵

Sendo assim, neste trabalho objetivou-se avaliar o potencial ecotóxico de látex obtidos de *E. heterophylla* utilizando *A. cepa* como organismo bioindicador.

Método

Extração do látex

O látex foi colhido de vegetais da espécie *E. heterophylla* cultivados em uma propriedade rural no Município de Piedade-SP. As amostras foram coletadas e armazenadas em frascos de vidro, e mantidas sob refrigeração até a execução dos testes.

Testes com *Allium cepa*

Para realização dos testes foram necessários 24 bulbos de cebola, obtidos comercialmente. Estes foram lavados, tiveram suas raízes retiradas com auxílio de tesoura e seu peso determinado com auxílio de balanças analíticas disponíveis no Laboratório de Farmacognosia da FUNVIC/Faculdade de Pindamonhangaba. Em seguida os bulbos foram expostos a diluições determinadas do látex em água destilada e a água destilada pura, que foi utilizada como controle negativo.

Para cada diluição do látex e para o grupo controle foram utilizados seis bulbos, sendo avaliadas as diluições de 50 ppm, 25 ppm e 10 ppm. As soluções avaliadas foram colocadas em recipientes de vidro, que foram preenchidos até a borda. Cada bulbo foi acondicionado com auxílio de varetas de madeira, as quais foram fixadas

delicadamente no bulbo, de modo a permitir oxigenação adequada.

Os bulbos permaneceram durante 96 horas em contato com as soluções, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, com área radicular imersa (Figuras 1 e 2). Ao final das 96 horas, avaliou-se a toxicidade por meio da determinação da inibição do crescimento das raízes, quantidade de raízes, peso úmido imediato das raízes, peso imediato dos bulbos e comprimento das raízes.

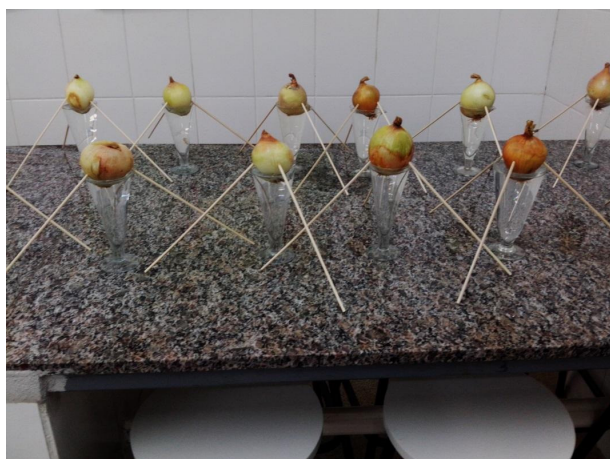


Figura 1- *A. cepa* com área radicular imersa nas diferentes diluições de látex



Figura 2- Detalhe da raiz de *A. cepa* submersa na diluição de látex testada

Análise estatística

Foi realizada a análise estatística através do cálculo da média do crescimento em centímetros das raízes, média da quantidade em número de raízes, média da massa em grama das raízes e média da massa obtida em grama dos bulbos. As médias obtidas de cada grupo foram avaliadas por meio de análise de Variância (teste ANOVA) e teste T de Student, utilizando como ferramenta o software Bioestat 2.0.

Resultados

Os bulbos de *A. cepa* utilizados nos biotestes com as diferentes concentrações do látex de *E. heterophylla* apresentaram crescimento normal e regular sem presença de necrose ou malformações de suas raízes, não apresentando diferenças significativas ($p > 0,05$) ao observado no grupo controle (Figura 3).

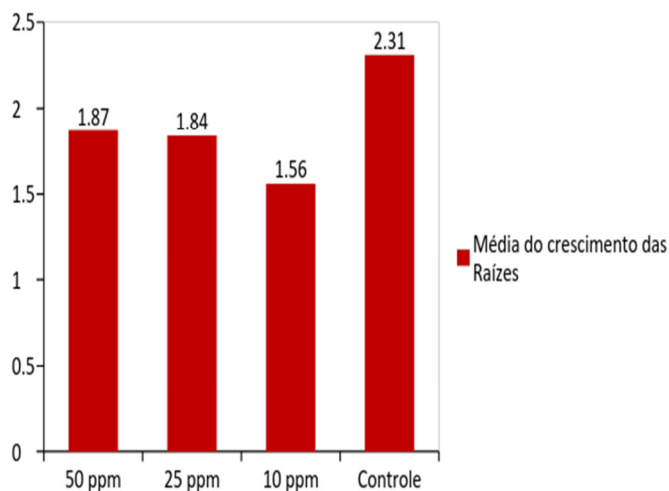


Figura 3- Média do crescimento em centímetros das raízes de *A. cepa* após exposição ao látex de *E. heterophylla*, nas concentrações de 50 ppm, 25 ppm e 10 ppm

Do mesmo modo, nas diferentes concentrações de látex avaliadas, a média da quantidade de raízes que germinaram não diferiu significativamente dos resultados observados no grupo controle (Figura 4)

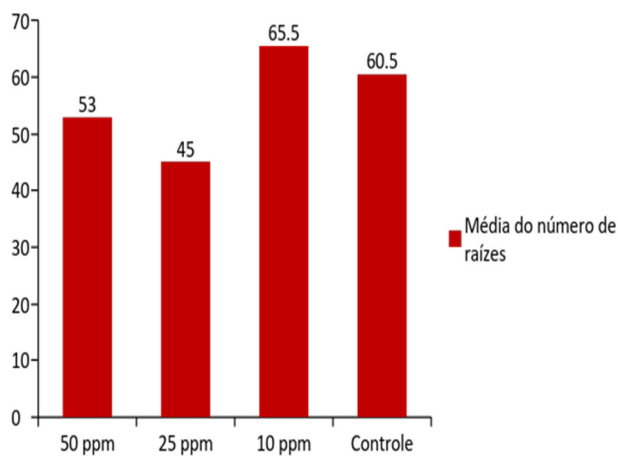


Figura 4- Média da quantidade em número de raízes de *A. cepa* após exposição ao látex de *E. heterophylla*, nas concentrações de 50 ppm, 25 ppm e 10 ppm

Esta evidência também foi observada quando da comparação do ganho de massa das raízes e dos bulbos (Figuras 5 e 6), uma vez que não foram detectadas diferenças significativas em nenhuma das concentrações avaliadas.

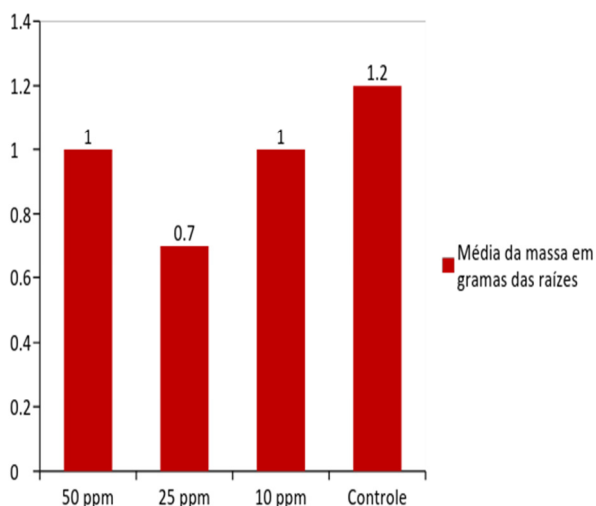


Figura 5- Média da massa em gramas das raízes de *A. cepa* após exposição ao látex de *E. heterophylla*, nas concentrações de 50 ppm, 25 ppm e 10 ppm

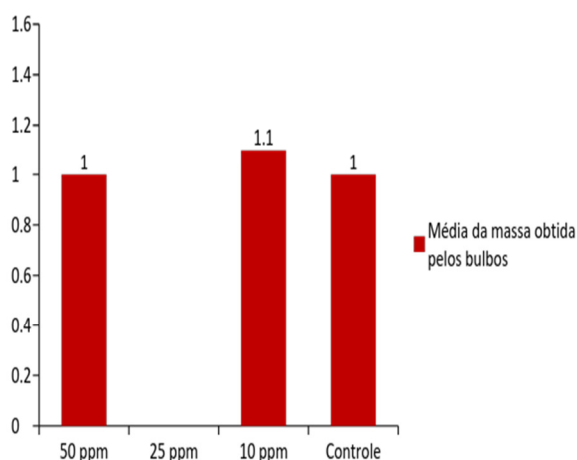


Figura 6- Média da massa obtida em gramas pelos bulbos de *A. cepa* após exposição ao látex de *E. heterophylla*, nas concentrações de 50 ppm, 25 ppm e 10 ppm

Discussão

Por meio dos resultados obtidos no presente trabalho, segundo os quais não houve diferença significativa em nenhum dos critérios avaliados, permite inferir que não há um risco tóxico potencial em se fazer uso do látex de *E. heterophylla* no meio ambiente.

Tais resultados, entretanto, diferem de conclusões apresentadas por outros pesquisadores, dentre os quais Adedapo et al.⁶ que observaram elevado potencial tóxico para as espécies *E. balsamifera*, *E. heterophylla*, *E. hirta*, *E. hyssopifolia* e *E. lateriflora* em um modelo experimental com ratos.

Nestes animais foram observadas alterações na concentração das enzimas hepáticas ALT e AST, o que, segundo os autores, indica necrose tecidual e consequentemente destaca o potencial tóxico dos látex obtidos dessas espécies.⁶

Tal divergência pode ser explicada pelo fato de que Adedapo et al.⁶ em seus experimentos, utilizaram extratos aquosos obtidos a partir dos vegetais testados, que foram administrados numa concentração de 1 a 2 g para cada animal estudado. Já no presente trabalho foi avaliada uma concentração de no máximo 50 ppm, que é nitidamente inferior à dose administrada por tais autores, permitindo hipotetizar que, em dose baixas, extratos vegetais de *E. heterophylla* não apresentam toxicidade significativa.

Nalule et al.¹¹ avaliaram a toxicidade aguda e efeitos histológicos de *E. heterophylla* em grupos de camundongos albinos, submetidos a dose oral única de diferentes concentrações do extrato etanólico de tal vegetal. Os camundongos foram avaliados após 24 horas da administração, e os autores observaram diversos danos tóxicos, dentre os quais, hemorragia, degeneração peri-vascular e necrose em órgãos viscerais. Os autores estimaram a dose letal média, que equivaleu a 2831mg/Kg de peso corpóreo de animal, indicando uma baixa toxicidade. Ainda segundo os mesmos, a potencial toxicidade de *E. heterophylla* está associada ao uso crônico e abusivo, destacando a importância do delineamento de estudos visando determinar a toxicidade crônica e subcrônica, bem como a genotoxicidade e mutagenicidade, como forma de determinar o efeito de uso prolongado em animais.

De acordo com a OMS, vegetais a serem testados quanto à propriedade moluscicida devem ser abundantes em áreas endêmicas da esquistossomose, ou serem facilmente cultiváveis, e, além disso, o produto ativo responsável pela toxidez deve estar presente em partes de fácil regeneração da planta, como folhas, flores, frutos e sementes. Ainda segundo a OMS, para ser considerado um moluscicida viável, o princípio ativo deve exercer efeito tóxico em caramujos adultos em concentração menor ou igual a 20 ppm do composto isolado e menor ou igual a 100 ppm do extrato bruto.¹⁴

Sendo assim, uma vez que o látex de diversas espécies do gênero *Euphorbia* tem apresentado atividade moluscicida em concentrações significativamente baixas,^{3-5,15} como as que foram

avaliadas no presente trabalho pode-se destacar o potencial uso dessas drogas derivadas para compor produtos que venham a ser úteis no controle do hospedeiro intermediário da esquistossomose, e, mais especificamente de *E. heterophylla*, tendo em vista a elevada disponibilidade desse vegetal no ambiente⁵ e a ausência de toxicidade que o mesmo apresentou na concentração de 50 ppm.

Cabe ressaltar que, conforme já enfatizado por Nalule et al.,¹¹ estudos futuros podem ser conduzidos para determinar a genotoxicidade e mutagenicidade do látex de *E. heterophylla*, utilizando, para este fim, a determinação do índice mitótico no modelo *A. cepa*, que tem sido amplamente empregado para este fim.

Referências

1. Moreira CPS, Zani CL, Alves TMA. Atividade Moluscicida do Látex de *Synadenium carinatum* boiss (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. Rev Eletr Farm. 2010;7:16-27.
2. Mello-Silva CC, Vilar MM, Vasconcellos MC, Pinheiro J, Rodrigues MLA. Carbohydrate metabolism alterations in *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni* and exposed to *Euphorbia splendens* var. *hislopii* latex. Mem Inst Osw Cruz. 2012;105:492-5.
3. Oliveira-Filho EC, Geraldino BR, Coelho DR, De-Carvalho RR, Paumgarten FJ. Comparative toxicity of *Euphorbia milii* and synthetic molluscicides to *Biomphalaria glabrata* embryos. Chemosphere. 2010;81(2):218-27.
4. Mello-Silva CC, Vasconcellos MC, Bezerra JCB, Rodrigues MLA, Pinheiro J. The influence of exposure to *Euphorbia splendens* var. *hislopii* látex on the concentrations of total proteins and nitrogen products in *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*. Acta Tropica. 2011;11(2):101-4.
5. Afonso Neto IS, Bessa EA, Soares GLG. Avaliação da atividade moluscicida de três espécies de *Euphorbia* (Euphorbiaceae) sobre *Leptinaria unilamellata* d'Orbigny, 1835 (Gastropoda – Subulinidae). Rev Bras Plantas Med. 2010;12:90-5.
6. Adedapo AA, Abatan MO, Olorunsogo OO. Toxic effects of some plants in the genus *Euphorbia* on haematological and biochemical parameters of rats. Vet archiv. 2004;74:53-62.
7. Varejão EVV, Demuner AJ, Barbosa LCA, Barreto RW, Vieira BS. Toxicidade de filtrados de cultura de *Alternaria euphorbiicola* em folhas de *Euphorbia heterophylla*. Planta Daninha. 2013;31:1-9.
8. Cerdeira AL, Gazziero DL, Duke SO, Matallo MB. Agricultural impacts of glyphosate-resistant soybean cultivation in South Africa. J Agric Food Chem. 2011;59(11):5799-807.
9. Nalule AS, Mbaria JM, Kimenju JW. In vitro anthelmintic potential and phytochemical composition of ethanolic and water crude extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn. J Med plants Res. 2013;7(43):3202-10.
10. Karimi I, Yousefi J, Gashghaei A. Ocular toxicity caused by *Euphorbia* Sap: a case report. Iranian J Pharmacol Therapeut. 2010;9(1):37-9.
11. Nalule AS, Afayoa M, Mali B, Majidu M. Acute oral toxicity of *Euphorbia heterophylla* Linn. Ethanolic extract in albino mice. Afr J Pharm Prarmacol. 2017;11(1):1-9.
12. Pequeno NF, Soto-Blanco B. Toxicidade *in vitro* de plantas tóxicas: avaliação do teste de ação hemolítica. Acta Sci Vet. 2006;34:45-8.
13. Rodrigues GZP, Dalzochio T, Gehlen G. Uso do bioensaio com *Allium cepa* L. e análises físico-químicas e microbiológicas para avaliação da qualidade do Rio da Ilha, RS, Brasil. Acta Toxicol Argent. 2016;24(2):97-104.
14. Almeida PM, Araújo SS, Marin-Morales MA, Benko-Iseppon AM, Brasileiro-Vidal AC. Genotoxic potential of the látex from cotton-leaf phisicnut (*Jatropha gossypifolia* L.) Genet Mol Biol. 2015; 38(1):93-100.
15. Arraes AIOM, Longhin SR. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. Enciclopédia Biosfera. 2012;8:1958-72.
16. Coelho PMZ, Caldeira RL. Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. Infect Dis Poverty. 2016;5(57):1-6.