



EFEITOS BIOLÓGICOS PROMOVIDOS POR REISHI (*Ganoderma lucidum*) SOBRE O CILO CELULAR DE *Allium cepa*

Luciana de Carvalho da Silva¹, Marcela Funaki dos Reis²

RESUMO: Este estudo tem como objetivo analisar os efeitos biológicos de Reishi sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Os bulbos de *Allium cepa* serão tratados com Reishi, controle positivo e negativo para comparação. Na análise citológica das lâminas de *Allium cepa* será observada cada fase do ciclo celular, progressão da mitose e presença de mutações cromossômicas. Será calculado o índice de mitose, índice de fases e classificados os tipos de mutações quando presentes. De acordo com os dados obtidos na análise citológica e estatística serão determinados os efeitos biológicos de Reishi. É esperado que o tratamento com Reishi promova nas células de *Allium cepa* efeitos antimutagênicos e antiproliferativos e que este cogumelo possa ser indicado para consumo com fins de prevenção e tratamento de câncer.

PALAVRAS-CHAVE: Efeito Antiproliferativo; Antimutagenicidade; Cogumelo Medicinal.

1 INTRODUÇÃO

Ganoderma lucidum (Figura 1), é um cogumelo basidiomiceto de origem oriental, conhecido popularmente como Reishi e Lingzhi. Apresenta uma longa história de consumo na China e Japão devido às alegações de promoção a saúde e garantia de longevidade (WATCHEL-GALOR et al., 2011).

Este cogumelo é indicado para consumo na forma de suplemento alimentar porque apresenta nutrientes como carboidratos, proteínas e minerais, além de lipídios como os ácidos linoléico, oléico, palmítico e elevado valor energético e funcional (STOJKOVIĆ et al., 2014; SINGH et al., 2014; YEGENOGLU et al. 2011).

No que se refere às propriedades medicinais atribuídas ao Reishi, as atividades antioxidante, imunomoduladora e antitumoral são as mais relatadas, uma vez que o câncer é uma das doenças mais preocupantes na área da saúde (SALTARELLI et al., 2015). As estimativas apontam que no Brasil, somente para os anos de 2014 e 2015 sejam registrados cerca de 576 mil novos casos de câncer, e até 2030, ocorrerão por volta de 13,2 milhões mortes no mundo como consequência desta doença (FACINA, 2014). Mas, uma vez que o câncer pode se desenvolver em várias etapas, se diagnosticados precocemente existem maiores chances de cura por meios de diferentes abordagens terapêuticas.

Nesse sentido o consumo de suplementos pode beneficiar a saúde, uma vez que aumentam a proteção contra a ação dos radicais livres, potencializam as defesas do sistema imune e estimulam diferentes mecanismos moleculares e celulares contra o processo de tumorigênese. Tendo como foco este pensamento, as pesquisas atuais procuram alternativas de tratamentos ao câncer que atuem no efeito antiproliferativo de células cancerígenas, mas também na prevenção as mutações que levam a tumorigênese.

Para analisar os efeitos mutagênicos/antimutagênicos e antiproliferativos, o reconhecido sistema teste *Allium cepa* é recomendado para medir a inibição da divisão celular por meio do índice mitótico, e assim, avaliar como um composto pode agir sobre a proliferação celular, além de detectar mutações por meio de alterações cromossômicas. Neste caso, este teste é capaz de indicar se um composto é antimutagênico pela detecção na diminuição da taxa de mutação espontânea e caso tenha efeito antiproliferativo, este é indicado pela redução da proliferação celular (FRESCURA et al., 2012).

¹ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá-PR. japinha_luciana@outlook.com

² Docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – PR. marcela.reis@unicesumar.edu.br

**Figura 1 - Reishi (*Ganoderma Lucidum*)****Fonte:** <http://www.ganodermareishi.it>

O cogumelo Reishi é comumente consumido em países orientais, devido a alegação de propriedade medicinal. No Brasil, este cogumelo está sendo introduzido para consumo na forma de cápsula também com a alegação de propriedade medicinal atuando na prevenção ou como suplemento durante o tratamento de câncer. Porém não existem estudos sobre o potencial antimutagênico para este cogumelo e as características sobre o efeito antiproliferativo não são bem esclarecidos. Nesse sentido, a realização de teste do *Allium cepa*, permite verificar a segurança na utilização deste cogumelo com relação ao potencial tóxico, bem como pode avaliar a ação sobre o ciclo celular e cromossomos indicando o potencial uso como suplemento capaz de promover efeito antimutagênico, prevenindo mutações e assim como efeito antiproliferativo, podendo ser indicado como suplemento durante tratamento de câncer. Assim, este estudo tem como objetivo analisar os efeitos biológicos de *Ganoderma lucidum* sobre o ciclo celular de *Allium cepa*.

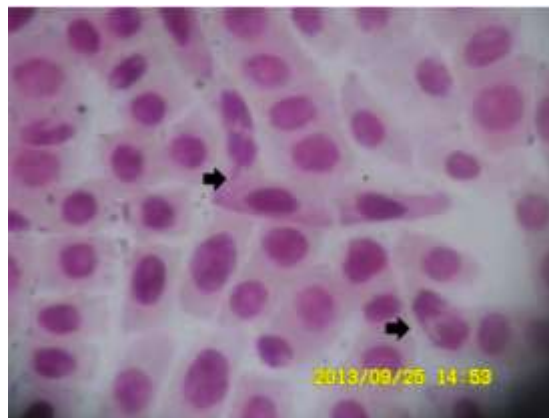
2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de *Ganoderma lucidum* pulverizado em cápsulas serão obtidas em comércio, localizado em São Paulo – SP. As concentrações de teste foram determinadas em 50 mg, 250mg e 500mg seguindo a posologia de uso indicada pelo fabricante.

Para o ensaio será utilizada a metodologia proposta por Fiskesjo (1985) com modificações, onde serão utilizados 5 bulbos de cebola (*Allium cepa*) para cada tratamento com aproximadamente 10 mm de diâmetro e com catáfilo externo extraído. Para estimular o crescimento das raízes o caule será raspado e os bulbos colocados em água destilada por 24 horas com fotoperíodo luz/escuro para promover a sincronização da divisão celular das células meristemáticas. Em seguida serão conduzidos os tratamentos com *Ganoderma lucidum*, a água destilada será utilizada como controle negativo e sulfato de cobre (6×10^{-7} g/mL) como controle positivo (Figura 2). As raízes permanecerão sobre tratamento durante 24 horas. Em seguida as raízes serão aleatoriamente cortadas, lavadas em água destilada e fixadas em Carnoy (álcool etílico-ácido acético, 3:1) durante 24 horas. Para análise citogenética será empregado o método de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002). As raízes serão hidrolisadas em HCl 1 M durante 8 minutos a 60°C, lavadas com água destilada e coradas com orceína acética (2%). A leitura das lâminas será realizada em microscópio óptico com aumento de 100 vezes pela técnica de varredura. Serão contadas 1000 células meristemáticas por lâminas, totalizando 5000 células por tratamento. As células meristemáticas serão classificadas de acordo com o estágio do ciclo celular em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Estes dados serão utilizados para calcular o índice mitótico (IM) e índice de fase (IF), segundo as fórmulas propostas por Roa *et al.*, (2012).

**Figura 2** – Teste de compostos em *Allium cepa*.**Fonte:** Marcela Funaki dos Reis

A presença de mutações cromossômicas para detecção de danos ao DNA serão observadas e classificadas como pontes cromossômicas, atrasos na metáfase, cromossomos soltos na anáfase, e micronúcleo na interfase (Figura 3).

**Figura 3** – Classificação de mutações em *Allium cepa*.**Fonte:** Marcela Funaki dos Reis.

As análises para o teste do *Allium cepa* se constituirão de 5 repetições por tratamento testado. Os resultados serão submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) utilizando o programa SISVAR versão 7.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Considerando os efeitos biológicos de Reishi já relatados na literatura é esperado que o tratamento das células de *Allium cepa* indique efeitos antimutagênicos e antiproliferativos. Nesse sentido é possível que o tratamento com Reishi comparado com os controle negativo e positivo indique proteção ao DNA por redução a taxa de mutação espontânea, contribuindo com afirmação de que este cogumelo pode ser consumido para fins de prevenção ao câncer. Também é possível esperar que o tratamento com Reishi sobre as células de *Allium cepa* tenham um índice de mitose (IM) e fases (IF) inferior ao controle negativo, mas superior ao controle positivo, indicando efeito antiproliferativo, e neste caso pode ser indicado no tratamento de câncer, uma vez que pode atuar inibindo a proliferação descontrolada de células cancerígenas.

REFERÊNCIAS

FACINA, T. Estimativa de 2014 – Incidência de câncer no Brasil, **Rev. Bras. Canc.**, 60(1): 63-64, 2014.

FISKESJO, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas.** 102: 99-112, 1985.

FRESCURA, V.D.S; LAUGHINGHOUSE, D.H; TEDESCO, S. B. Antiproliferative effect of the tree and medicinal species *Luehea divaricata* on the *Allium Cepa* cell cycle, **Caryologia.** 65(1): 27-33, 2012.



GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana.** São Paulo. Fundação Norte-Rio-Grandense de pesquisa e cultura, 2002.

SALTARELLI, R.; CECCAROLI, P.; BUFFALINI, M.; VALLORANI, L.; CASADEI, L.; ZAMBONELLI, A.; LOTTI, M.; STOCCHI, V. Biochemical characterization and antioxidant and antiproliferative activities of different ganoderma collections. **J. Mol. Microbiol. Biotechnol.** 25(1):16-25., 2015.

SINGH, G.; DHINGRA, S.; SHRI, R. A comparative study of taxonomy, physicochemical parameters, and chemical constituents of *Ganoderma lucidum* and *G. philippii* from Uttarakhand, India Ranjeet, **Turk. J. Bot.**, 38: 186-196, 2014.

STOJKOVIC, D.S.; BARROS, L.; RICARDO, C.C.; GLAMOCLIJIA, J.; CIRIC, A.; VAN GRIENSVEN, L.J.D.; FERREIRA, I.C.F.R. A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins, **Int. J. Food Sci. Nut.**, 65(1): 42–47, 2014.

ROA, O.; YEBER, M.C.; VENEGAS, W. Genotoxicity and toxicity evaluations of ECF cellulose bleaching effluents using the *Allium cepa* L. **Test. Braz J Biol.** 72(3): 471-477, 2012.

WACHTEL-GALOR, Y.; BUSWELL, J.A.; BENZIE, I.F. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): A Medicinal Mushroom. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. **Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects.** 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press; 2011.

YEGENOGLU, H.; ASLIM, B.; OKE, F. Comparison of antioxidant capacities of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Funalia trogii* (Berk.) Bondartsev & Singer by using different in vitro methods, **J. Med. Food**, 14(5):512-516, 2011.