

INVESTIGAÇÃO DO EFEITO MUTAGÊNICO E ANTIMUTAGÊNICO DA MIRICETINA ATRAVÉS DO TESTE SMART EM *Drosophila melanogaster*

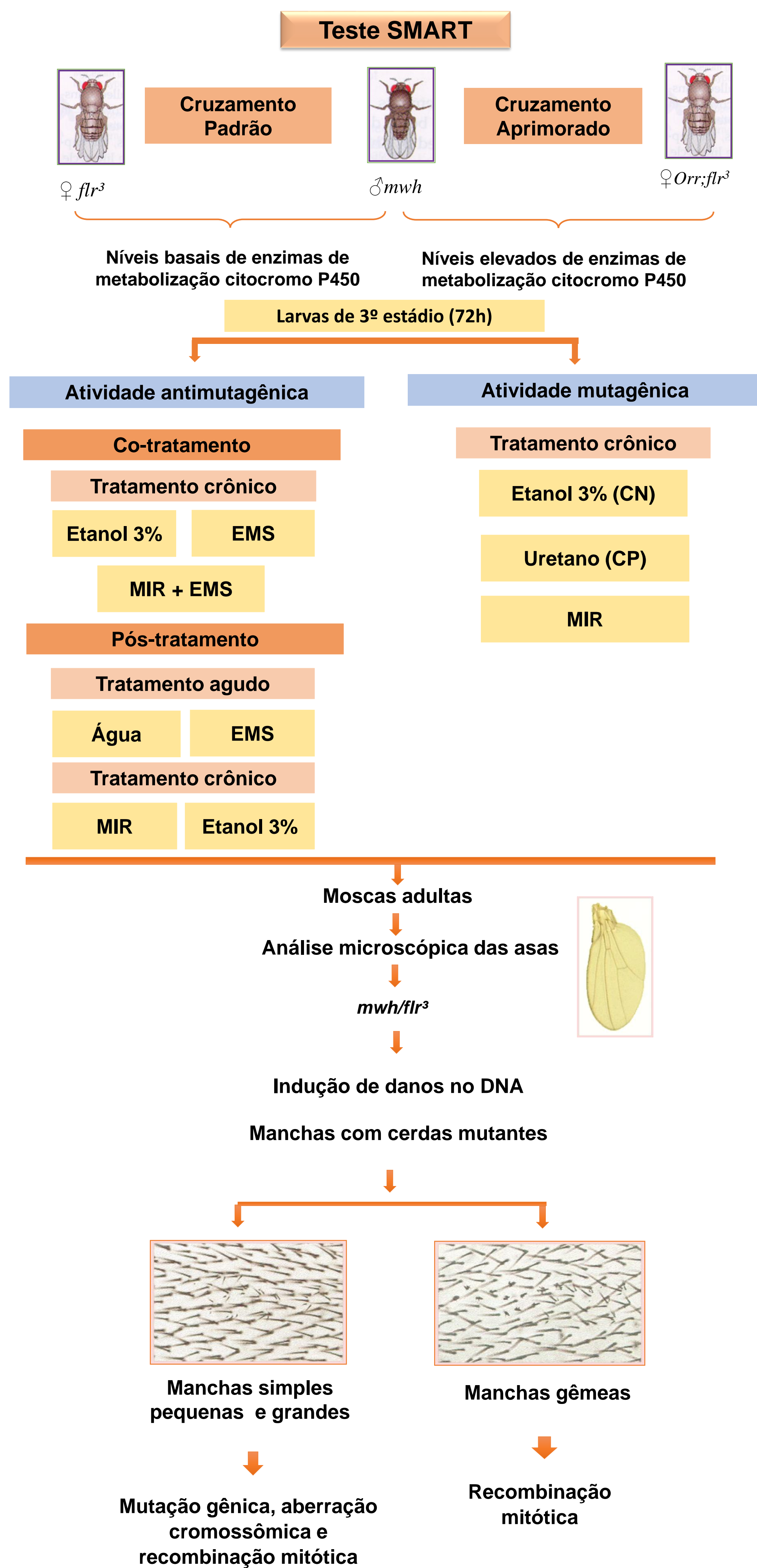
^{1,3,4}Renata Schütts Lemos; ^{1,3,4}Vanessa de Souza Bizarro; ²Luciano A.A. Barros; ¹Rafael R. Dohl e ¹Mauricio Lehmann
¹Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), ULBRA Canoas; ²Aluno de Doutorado do PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde); ³Bolsista de IC PROBIC/FAPERGS-ULBRA; ⁴Aluna do Curso de Biomedicina, ULBRA Canoas. mauriciol@ulbra.br

Introdução

A miricetina (MIR) é um flavonóide comum na dieta humana sendo encontrado em frutas, chás, legumes, vinho tinto e plantas medicinais. Evidências baseadas em estudos epidemiológicos e nutricionais demonstraram que os compostos fenólicos desempenham um papel importante na prevenção e tratamento de várias doenças (Xiao et al., 2014). Este composto possui as seguintes atividades biológicas: antioxidante, antialérgica, antiaterogênica, anti-inflamatória e antiangiogênica (Nan et al., 2014).

Assim a utilização de flavonóides como novos fármacos disponíveis no mercado deveria redirecionar-se a estudos que comprovem sua utilização eficiente e segura, requerendo para isso novas informações sobre seus possíveis efeitos adversos, biodisponibilidade em diferentes formas de administração, e caracterização das propriedades individuais. Sendo assim, o objetivo deste projeto é avaliar a atividade mutagênica da MIR e estudar o potencial antimutagênico deste composto fenólico sobre os danos genéticos induzidos pelo mutágeno etil-metano-sulfonato (EMS), através do teste para detecção de Mutação e Recombinação Somática (SMART) em *D. melanogaster* (Andrade et al., 2004).

Metodologia



Resultados

Tabela 1: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie trans-heterozigota (*mwh/flr³*) no cruzamento padrão e aprimorado após exposição crônica de larvas de 3º estágio a diferentes concentrações de miricetina (MIR)

Tratamentos	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (nº de manchas) diagnóstico				Total manchas <i>mwh^c</i> (n)
		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas ^b m = 2	
Cruzamento Padrão						
CN ^e	40	1,08 (43)	0,18 (07)	0,05 (02)	1,30 (52)	52
CP ^f	20	7,10 (142)	0,85 (17)	0,20 (04)	8,15 (163)	161
MIR 12,5 mg/L	40	1,25 (50)	0,20 (08)	0,05 (02)	1,50 (60)	58
MIR 25 mg/L	40	1,15 (46)	0,08 (03)	0,03 (01)	1,25 (50)	50
MIR 50 mg/L	40	0,78 (31)	0,15 (06)	0,10 (04)	1,03 (41)	41
MIR 100 mg/L	40	1,20 (48)	0,13 (05)	0,08 (03)	1,40 (56)	55
Cruzamento Aprimorado						
CN ^e	40	1,48 (59)	0,18 (07)	0,08 (03)	1,73 (69)	67
CP ^f	20	53,6 (1072)	6,75 (135)	2,50 (50)	62,8 (1257)	1244
MIR 12,5 mg/L	40	1,10 (44)	0,05 (02)	0,08 (03)	1,23 (49)	49
MIR 25 mg/L	40	1,68 (67)	0,13 (05)	0,03 (01)	1,83 (73)	73
MIR 50 mg/L	40	2,15 (86)	0,30 (12)	0,08 (03)	2,53 (101)	100
MIR 100 mg/L	40	1,38 (55)	0,23 (09)	0,10 (04)	1,70 (68)	67

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): -, negativo; +, positivo quando comparado ao CN; $p \leq 0,05$. ^bIncluindo manchas simples *flr³* raras. ^cForam considerados apenas os clones *mwh* das manchas simples *mwh* e das manchas gêmeas. ^eCN (controle negativo): solução aquosa com 3% de etanol. ^fCP (controle positivo): uretano 20 mM.

Tabela 2. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão após exposição de larvas de 3º estágio ao co-tratamento e pós-tratamento com EMS e MIR.

Tratamentos	MIR (mg/L)	EMS (mM)	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (nº de manchas) diagnóstico estatístico ^a			Total de manchas <i>mwh^c</i> (n)
				Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m=2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m=5	Manchas gêmeas m=5	
Co-tratamento							
0	0	40	1,08 (43)	0,18 (07)	0,05 (02)	1,30 (52)	52
0	5	40	81,60 (3264) *	22,78 (911) *	8,75 (350) *	113,13 (4525) *	4379
25	5	40	74,68 (2987) -	19,55 (782) -	8,85 (354) -	103,08 (4123) -	4003
50	5	40	68,35 (2734) -	21,28 (851) -	9,75 (390) -	99,38 (3975) -	3848
100	5	40	54,53 (2181) +	14,20 (568) +	6,75 (270) -	75,48 (3019) +	2888
Pós-tratamento							
0	0	50	0,82 (41)	0,10 (05)	0,04 (02)	0,96 (48)	48
0	46	20	9,90 (198) *	12,30 (246) *	7,45 (149) *	29,65 (593) *	509
25	46	20	7,60 (152) -	9,90 (198) -	7,90 (158) -	25,40 (508) -	437
50	46	20	10,60 (212) -	11,10 (222) -	7,45 (149) -	29,15 (583) -	515
100	46	30	9,70 (291) -	11,73 (352) -	7,03 (211) -	28,47 (854) -	731

^aDiagnóstico estatístico através do teste binomial condicional e teste U de Wilcoxon, Mann e Whitney: *, positivo quando comparado ao controle negativo; -, negativo; +, positivo, quando comparado ao tratamento com EMS 5 mM (co-tratamento) ou 46 mM (pós-tratamento), $p \leq 0,05$; m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. ^bInclui manchas simples *flr³* raras. ^cConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Discussão

Os resultados referentes à toxicidade genética da MIR estão descritos na Tabela 1 e mostram que este composto não exerceu atividade mutagênica em todas as concentrações avaliadas em ambos os cruzamentos.

Os dados referentes a atividade antimutagênica no protocolo de co-tratamento mostram que a MIR reduziu a frequência de danos genéticos induzidos pela genotoxina etil-metano-sulfonato (EMS) apenas na concentração de 100 mg/mL. No protocolo de pós-tratamento a MIR não foi capaz de alterar significativamente a frequência de danos induzidos pelo EMS (Tabela 2).

Apesar dos dados da literatura comprovarem o efeito antioxidante da MIR (Nan et al., 2014), os resultados obtidos neste estudo mostram que este flavonóide também é capaz de inibir a indução de danos genéticos por outras vias de modulação. O EMS não induz dano oxidativo no DNA, pois é um alquilante monofuncional capaz de doar um grupo alquila como o CH_3 ou CH_3CH_2 para os grupos amino ou cetona do nucleotídeo (centros nucleofílicos reativos no DNA) formando especificamente O6-etilguaninas e N-etilações responsáveis por mutações, por erro de pareamento, do tipo transições A-T, entre outras (Branda et al., 1999).

Referências bibliográficas

- ANDRADE, H. H. R.; REGULY, M. L.; LEHMANN, M. Wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). In: HENDERSON, D. S. (Ed.). **Drosophila Cytogenetics Protocols**. Totowa: Human Press Inc., 2004. p. 389-412.
BRANDA, R. F., LAFAYETTE, A. R., O'NEILL, J. P., et al. The effect of folate deficiency on the hprt mutational spectrum in Chinese hamster ovary cells treated with monofunctional alkylating agents. **Mutation Research**, v. 427, 79-87, 1999.
NAN, H. J.; MA, H. J.; ZHANG, R. T., et al. Physicochemical properties of the complex of myricetin and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, 1791-6, 2014.
XIAO, J.; MUZASHVILI, T. S.; GEORGIEV, M. I. Advances in the biotechnological glycosylation of valuable flavonoids. **Biotechnology Advances**, v. 32, 1145-56, 2014.