

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA E ANTIMUTAGÊNICA DA MIRICETINA E RUTINA EM *Drosophila melanogaster*

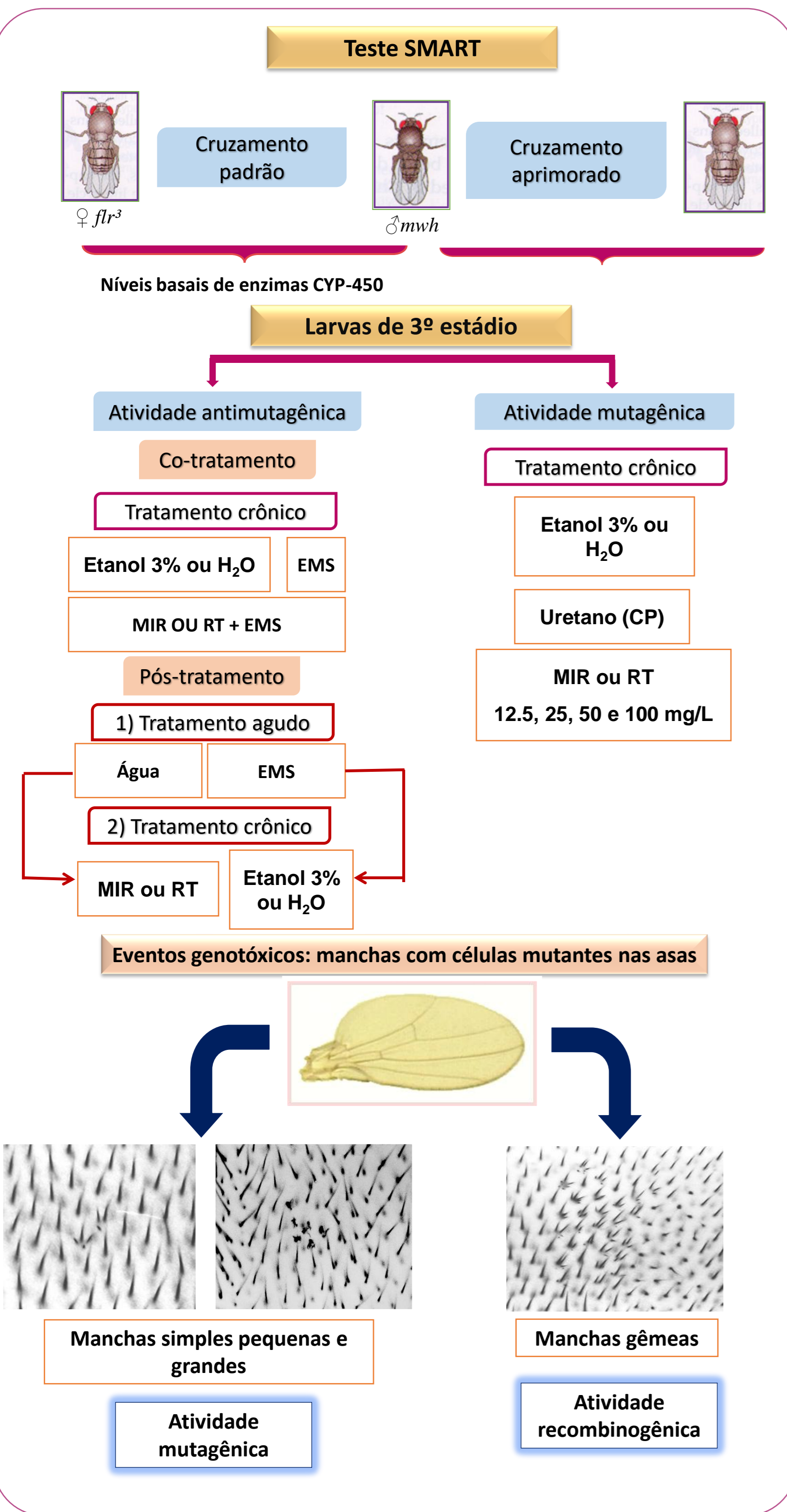
Taiah Rajeh Rosin<sup>1,2</sup>; Renata Schütts Lemos<sup>1</sup>; Luciano A.A. Barros<sup>1</sup>; Rafael R. Dhl<sup>1</sup> e Mauricio Lehmann<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde), ULBRA Canoas; <sup>2</sup>Bolsista de IC PIBIC/CNPq-ULBRA, aluna do Curso de Biologia, ULBRA Canoas; <sup>3</sup>Orientador IC. E-mail: mauriciol@ulbra.br

## INTRODUÇÃO

Compostos fenólicos, como flavonóides, são produtos de origem natural do grupo dos metabólitos secundários abundantes no reino vegetal. Têm amplas ações biológicas envolvendo não apenas o papel nutricional, mas também ações terapêuticas benéficas, como efeito antioxidante, anti-inflamatório, antidiabético e antimutagênico. Entre os flavonóides de ocorrência natural mais consumidos atualmente destacam-se a miricetina (MIR) e a rutina (RT). Embora muitos estudos apontem para os efeitos antioxidantes e antigenotóxicos dos compostos fenólicos, pouco se sabe sobre a capacidade moduladora destes agentes sobre a indução de danos genéticos, especialmente a recombinação somática. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade mutagênica da MIR e RT e estudar o potencial antimutagênico destes compostos sobre os danos genéticos induzidos pelo etil-metanossulfonato (EMS) através do teste para detecção de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*.

## METODOLOGIA



## RESULTADOS

**Tabela 1** - Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão após exposição crônica de larvas de 3º estágio à MIR e RT e seus respectivos controles negativos e positivos.

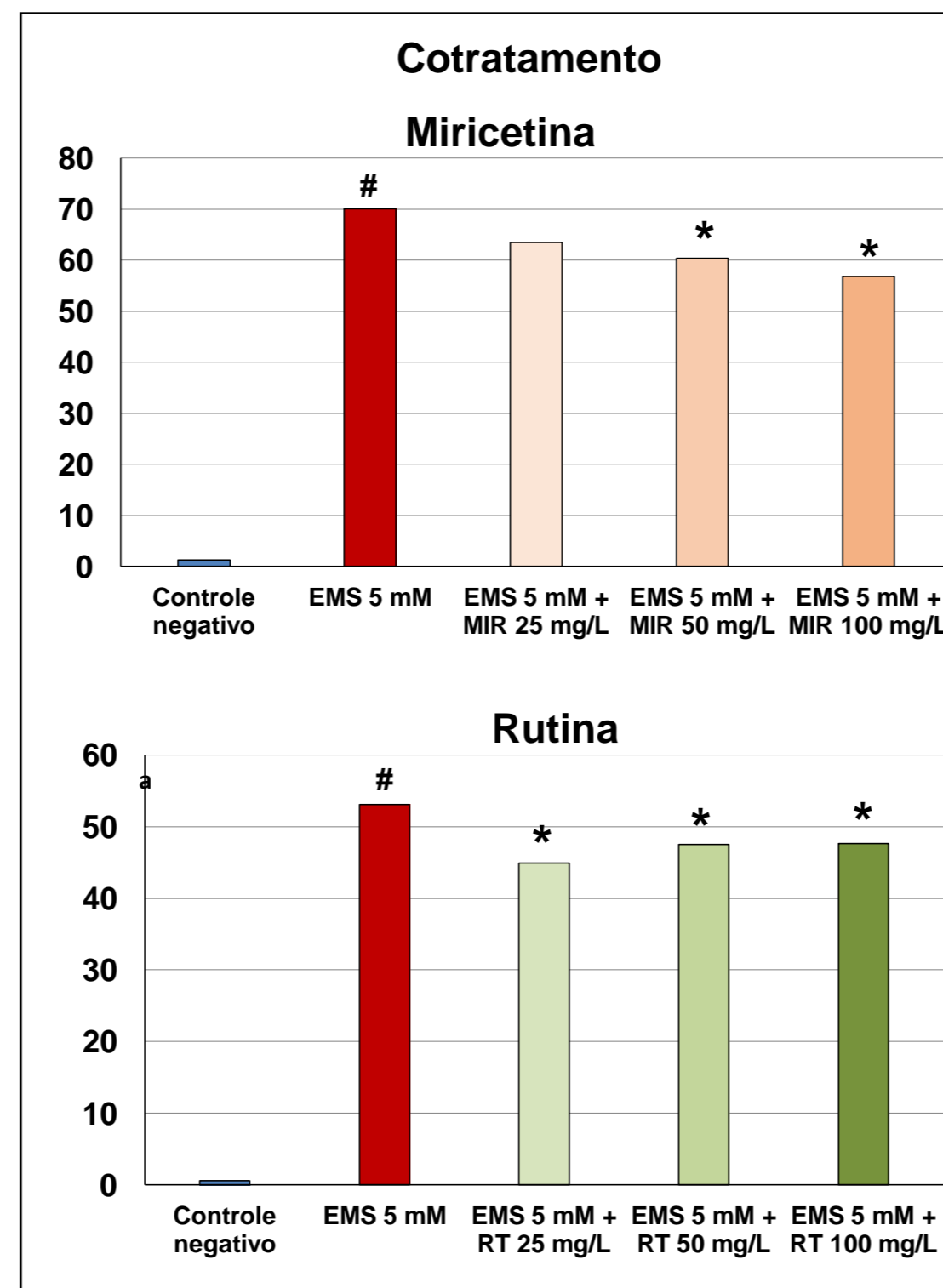
Tratamento <sup>a</sup>	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (nº de manchas) diagnóstico estatístico <sup>b</sup>				Total de manchas <i>mwh</i> <sup>d</sup> (n)
		Manchas simples pequenas (1-2 células) <sup>c</sup> m = 2	Manchas simples grandes (>2 células) <sup>c</sup> m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas <sup>c</sup> m = 2	
<b>MIR</b>						
CN1	60	0,67 (40)	0,10 (06)	0,03 (02)	0,80 (48)	48
CP	20	4,35 (87) +	0,55 (11) +	0,10 (02) i	5,00 (100) +	98
12,5 mg/L	60	0,72 (43) -	0,10 (06) -	0,03 (02) -	0,85 (51) -	48
25 mg/L	60	0,63 (38) -	0,07 (04) -	0,02 (01) -	0,72 (43) -	43
50 mg/L	60	0,47 (28) -	0,07 (04) -	0,03 (02) -	0,57 (34) -	34
100 mg/L	60	0,57 (34) -	0,07 (04) -	0,03 (02) -	0,67 (40) -	39
<b>RT</b>						
CN2	60	0,53 (32)	0,10 (06)	0,08 (05)	0,72 (43)	41
CP	20	4,95 (99) +	0,15 (03) i	0,05 (01) i	5,15 (103) +	103
12,5 mg/L	60	0,43 (26) -	0,05 (03) -	0,03 (02) -	0,52 (31) -	31
25 mg/L	60	0,38 (23) -	0,15 (09) i	0,10 (06) i	0,63 (38) -	38
50 mg/L	60	0,33 (20) -	0,03 (02) -	0,08 (05) i	0,45 (27) -	27
100 mg/L	60	0,58 (35) -	0,07 (04) i	0,05 (03) i	0,70 (42) -	41

<sup>a</sup>CN1: solução aquosa com 3% de etanol; CN2: controle negativo, água destilada e deionizada; CP: controle positivo, uretano 20 mM. <sup>b</sup>Diagnóstico estatístico: -, negativo quando comparado ao CN através do teste binomial condicional; m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância α=β=0,05. <sup>c</sup>Inclui manchas simples *flr³* raras. <sup>d</sup>Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

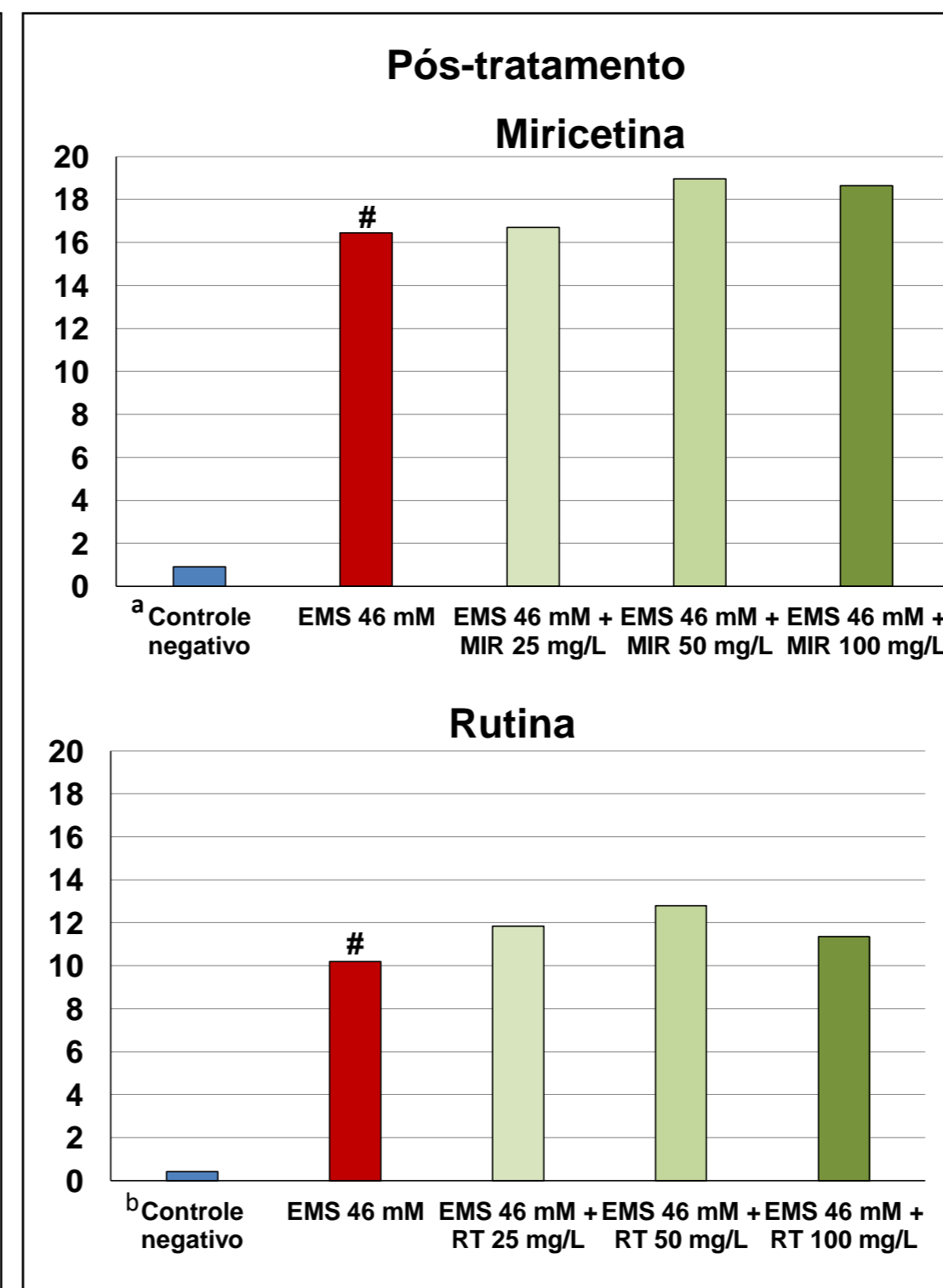
**Tabela 2** - Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento aprimorado após exposição crônica de larvas de 3º estágio à MIR e RT e seus respectivos controles negativos e positivos.

Tratamento <sup>a</sup>	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (nº de manchas) diagnóstico estatístico <sup>b</sup>				Total de manchas <i>mwh</i> <sup>d</sup> (n)
		Manchas simples pequenas (1-2 células) <sup>c</sup> m = 2	Manchas simples grandes (>2 células) <sup>c</sup> m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas <sup>c</sup> m = 2	
<b>MIR</b>						
CN1	60	0,87 (52)	0,12 (07)	0,05 (03)	1,03 (62)	60
CP	20	32,95 (659) +	4,15 (83) +	1,55 (31) +	38,65 (773) +	765
12,5 mg/L	60	0,70 (42) -	0,10 (06) -	0,07 (04) -	0,87 (52) -	52
25 mg/L	60	0,87 (52) -	0,12 (07) -	0,03 (02) -	1,02 (61) -	61
50 mg/L	60	1,00 (60) -	0,15 (09) -	0,05 (03) -	1,20 (72) -	72
100 mg/L	60	0,95 (57) -	0,15 (09) -	0,05 (03) -	1,15 (69) -	68
<b>RT</b>						
CN2	60	0,52 (31)	0,12 (07)	0,05 (03)	0,68 (41)	41
CP	20	20,25 (405) +	8,20 (164) +	3,45 (69) +	31,90 (638) +	621
12,5 mg/L	60	0,60 (36) -	0,12 (07) -	0,05 (03) -	0,77 (46) -	46
25 mg/L	60	0,52 (31) -	0,03 (02) -	0,05 (03) -	0,60 (36) -	35
50 mg/L	60	0,52 (31) -	0,03 (02) -	0,08 (05) i	0,63 (38) -	38
100 mg/L	60	0,67 (40) -	0,23 (14) i	0,03 (02) -	0,93 (56) -	56

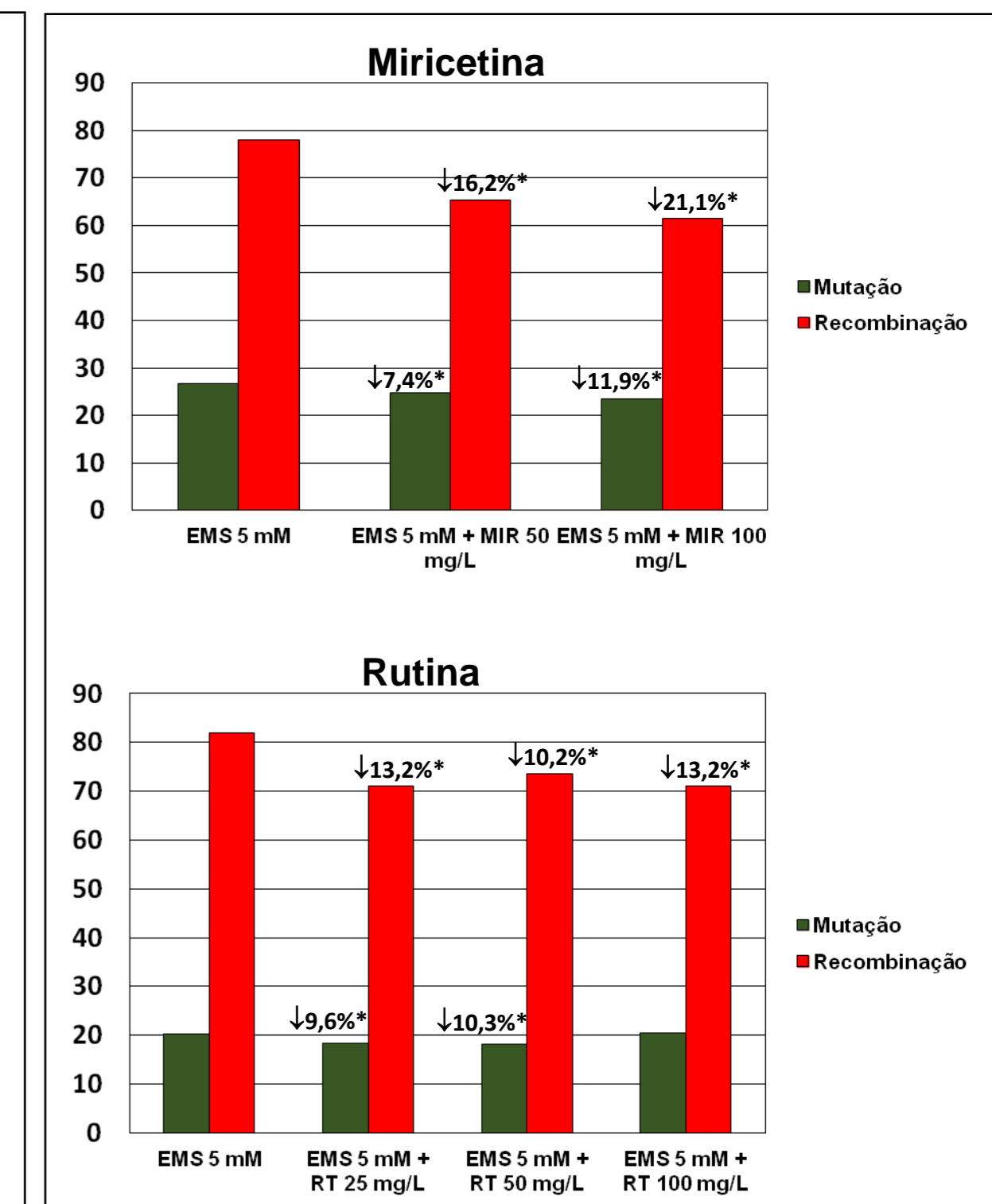
<sup>a</sup>CN1: solução aquosa com 3% de etanol; CN2: controle negativo, água destilada e deionizada; CP: controle positivo, uretano 20 mM. <sup>b</sup>Diagnóstico estatístico: -, negativo quando comparado ao CN através do teste binomial condicional; m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância α=β=0,05. <sup>c</sup>Inclui manchas simples *flr³* raras. <sup>d</sup>Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.



**Figura 1** - Frequência total de manchas obtidas no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição aguda de larvas de 3º estágio ao tratamento com EMS seguido do pós-tratamento com rutina (RT), ácido rosmarínico (AR), miricetina (MIR) e miricitrina (MTR). <sup>a</sup>Controle negativo: etanol 3%. <sup>b</sup>Controle negativo: água destilada. <sup>c</sup>Significativo quando comparado ao controle negativo. \*Significativo quando comparado ao EMS. Teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon, p ≤ 0,05.



**Figura 2** - Frequência total de manchas obtidas no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição aguda de larvas de 3º estágio ao tratamento com EMS seguido do pós-tratamento com rutina (RT), ácido rosmarínico (AR), miricetina (MIR) e miricitrina (MTR). <sup>a</sup>Controle negativo: água destilada. <sup>b</sup>Controle negativo: etanol 3%. # Significativo quando comparado ao controle negativo. \* Significativo quando comparado ao EMS. Teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon, p ≤ 0,05.



**Figura 3** - Frequência de indução de clones mutantes (por 10<sup>5</sup> células por divisão celular corrigidas pelo controle negativo) gerados por recombinação ou mutação, após exposição crônica de larvas de *D. melanogaster* em terceiro estágio ao cotratamento de EMS com diferentes concentrações de MIR e RT. \*Porcentagem (%) de redução (↓) observada quando comparado ao tratamento com EMS 5 mM.

## CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo mostram que a MIR e a RT não foram mutagênicas e recombinogênicas no teste SMART de asa, nas condições experimentais utilizadas.

O efeito protetor observado para a MIR e a RT no protocolo de cotratamento indica que estes compostos apresentam ação protetora mais ampla, do que apenas a atividade antioxidante, já descrita na literatura, visto que o EMS não é capaz de induzir danos oxidativos no DNA. Desta forma, MIR e RT parecem competir com sítios nucleofílicos celulares (proteínas, RNA e DNA) protegendo-os do ataque pelo agente alquilante. Além disso, a ausência de modulação no protocolo de pós-tratamento indica que estes compostos não interferem nos mecanismos de reparação do DNA.

## ENTIDADES FINANCIADORAS

FAPERGS, CAPES e CNPq

## DISCUSSÃO

Nos estudos referentes ao potencial mutagênico foram utilizados os cruzamentos padrão e aprimorado, que diferem na quantidade de enzimas de metabolização do tipo citocromo P450. Os resultados mostram que ambos os compostos, avaliados nas concentrações de 12,5; 25; 50 e 100 mg/mL não exerceram atividade mutagênica em ambos os cruzamentos, sendo, portanto, destituídos de atividade mutagênica (Tabelas 1 e 2).

Na análise do potencial antimutagênico, foram utilizados os protocolos de cotratamento e pós-tratamento no cruzamento padrão. Os dados sobre a atividade antimutagênica no protocolo de cotratamento mostram que a MIR reduziu a frequência de danos genéticos induzidos pelo EMS nas concentrações de 50 e 100 mg/L, enquanto a RT apresentou o mesmo efeito modulador, porém nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/L (Figura 1). Por outro lado, no protocolo pós-tratamento, MIR e RT não foram capazes de alterar significativamente a frequência de danos induzidos pelo EMS (Figura 2). Embora a redução na atividade mutagênica do EMS observada no cotratamento tenha ocorrido preferencialmente sobre os danos de origem recombinacional, as lesões mutacionais também se apresentaram, porém em menor frequência, para ambos os compostos na maioria das concentrações (Figura 3).