

Avaliação da atividade mutagênica de dois compostos sintetizados para uso como filtros solares através do teste *Salmonella/microsossoma*

MEDEIROS DE OLIVEIRA¹, João Denis;
SOUSA RUFATTO², Karen;
TORRES DE SOUSA¹ Jayne;
BRIÃO MENEZES BOARETTO¹, Fernanda;
SILVA CORRÊA², Dione;
NASCIMENTO PICADA¹ Jaqueline
Email:joaodenismo@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os raios ultravioleta emitidos pelo sol possuem maior efeito sob os seres vivos quando comparados aos outros raios e ao entrarem em contato direto com a pele a humana causam lesões, se a exposição for continua e frequente pode causar doenças epidérmicas graves. Os compostos 2-(benzoxazol-2-il)-5-[(2-hidroxinaftil) diazenil] fenol (Azo-5') e 2-(benzoxazol-2-il)-4-[(2-hidroxinaftil) diazenil] fenol (Azo-4') são derivados benzoxazol que absorvem radiação na faixa do UVA e UVB, apresentam fator de proteção solar maior do que 45 e fotoestabilidade, o que os classifica nos requisitos básicos para que sejam utilizados como filtros solares. O objetivo deste estudo foi verificar se os compostos Azo-5' e Azo-4' são mutagênicos.

METODOLOGIA

Visto a relevância do teste *Salmonella/microsossoma* (teste de Ames) para avaliação de mutações gênicas, na triagem da segurança pré-clínica de novas substâncias para uso na saúde humana, o teste foi realizado nas linhagens TA98, TA97a, TA100, TA1535 e TA102 de *Salmonella typhimurium* na presença e ausência de ativação metabólica (S9mix), utilizando a metodologia de pré-incubação.

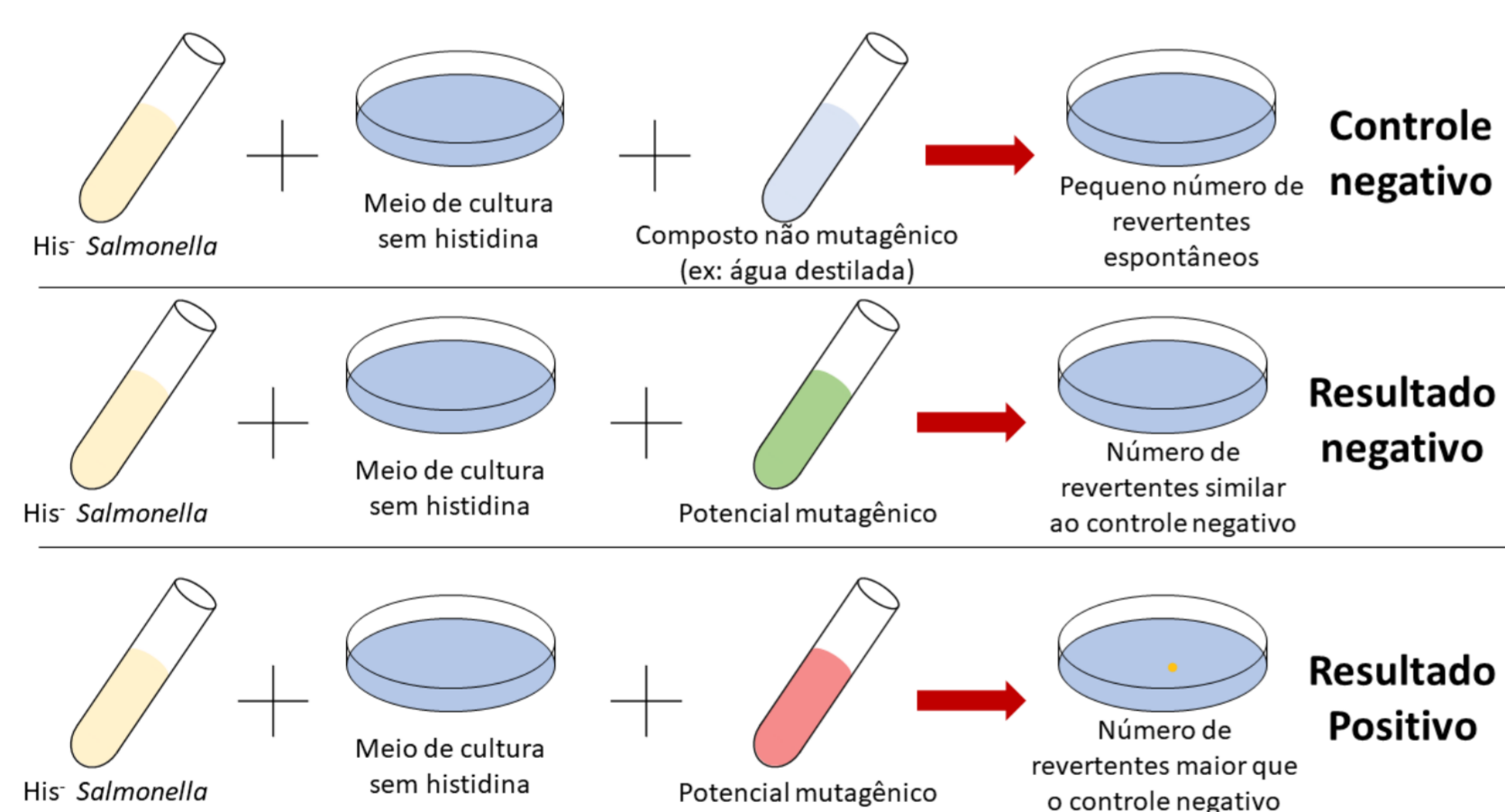


Imagem 1: Esquema ilustrativo do teste teste *Salmonella/microsossoma* (teste de Ames), fonte:Imagem retirada da internet

RESULTADOS

Tabela 1. Indução de revertentes *his+* em cepas de *S. typhimurium* por AZO-4' com e sem ativação metabólica (S9 mix).

Cepas <i>S. typhimurium</i>											
Substância	Concentração (µg/placa)	TA98		TA97a		TA100		TA1535		TA102	
		Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b
Sem ativação metabólica (-S9)											
CN ^c	-	19.0±5.6	-	88.8±15.2	-	88.7±12.5	-	8.3±4.0	-	279.3±18.0	-
AZO-4'	10	27.0±10.5	1.4	93.5±2.1	1.1	89.3±8.3	1.0	7.0±3.6	0.8	309.7±37.7	1.1
	50	24.0±8.5	1.3	73.5±20.9	0.8	79.7±11.0	0.9	10.3±1.2	1.2	385.7±16.3	1.4
	100	22.3±3.8	1.2	100.0±10.8	1.1	74.0±8.9	0.8	13.0±11.3	1.6	366.3±25.5	1.3
	150	21.0±5.6	1.1	88.0±16.1	1.0	65.7±20.8	0.7	7.3±3.8	0.9	373.0±52.7	1.3
	250	17.7±2.3	0.9	91.0±13.2	1.0	68.0±7.1	0.8	6.0±2.6	0.7	357.0±35.2	1.3
CP ^d	0.5 (4NQO) 1 (NaN ₃)	186.0±51.5***	9.8	465.0±52.3***	5.2	646.5±163.3***	7.3	102.5±7.8***	12.3	2393.0±501.4***	8.6
Com ativação metabólica (+S9)											
CN ^c	-	43.0±5.3	-	73.7±13.3	-	114.0±5.7	-	11.0±8.2	-	395.0±25.5	-
AZO-4'	10	47.0±3.6	1.1	90.3±23.5	1.2	124.7±18.0	1.1	12.7±3.1	1.2	411.3±52.4	1.0
	50	36.7±7.6	0.9	76.3±11.9	1.0	104.7±7.2	0.9	11.0±2.6	1.0	371.3±43.1	0.9
	100	52.7±8.3	1.2	100.7±9.1	1.4	123.0±8.9	1.1	11.7±0.6	1.1	326.7±63.5	0.9
	150	52.7±9.7	1.2	114.3±9.6	1.6	114.7±17.6	1.0	25.3±5.1*	2.3	374.0±46.7	0.8
	250	47.3±2.3	1.1	98.0±8.9	1.3	125.7±18.9	1.1	23.7±6.4	2.2	328.7±89.2	0.8
CP ^d	2 (2AA)	567.5±20.5***	13.2	354.5±41.7***	4.8	294.7±48.9***	2.6	74.0±7.2***	6.7	1001.0±28.3***	2.5

Tabela 2. Indução de *his+* revertentes em cepas de *S. typhimurium* pelo AZO-5' com e sem ativação metabólica (S9 mix).

<i>S. typhimurium</i> strains											
Substância	Concentração (µg/placa)	TA98		TA97a		TA100		TA1535		TA102	
		Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b	Rev/placa ^a	IM ^b
Sem ativação metabólica (-S9)											
CN ^c	-	32.0±5.0	-	116.7±12.7	-	115.0±2.6	-	20.0±9.2	-	373.6±28.9	-
AZO-5'	100	36.3±1.5	1.1	111.3±6.8	1.0	112.3±23.7	1.0	24.7±10.5	1.2	514.7±63.5	1.4
	150	33.0±8.9	1.1	139.7±14.5	1.2	114.0±11.5	1.0	23.3±1.2	1.2	490.7±59.2	1.3
	250	42.3±2.3	1.3	163.0±12.1	1.4	143.3±15.1	1.2	19.7±2.9	1.0	447.0±65.7	1.2
	500	42.7±3.1	1.3	135.3±28.2	1.2	133.5±48.8	1.2	17.7±5.5	0.9	434.0±61.2	1.2
	1000	50.3±10.1	1.6	137.3±26.5	1.2	169.0±17.0	1.5	23.0±7.9	1.2	436.0±84.2	1.2
CP ^d	0.5 (4NQO) 1 (NaN ₃)	128.5±21.9***	4.0	326.5±65.8***	2.8	843.7±35.0***	7.3	966.0±80.6***	48.3	1550.0±190.2***	4.0
Com ativação metabólica (+S9)											
CN ^c	-	31.3±8.0	-	110.7±27.0	-	119.7±7.6	-	8.0±2.0	-	431.3±76.7	-
AZO-5'	100	29.0±5.7	0.9	104.0±9.9	0.9	135.7±22.8	1.1	9.3±1.5	1.2	374.3±79.2	0.9
	150	31.5±10.6	1.0	155.3±39.1	1.4	123.3±17.8	1.0	7.7±2.1	1.0	565.0±58.2	1.3
	250	30.7±10.1	1.0	190.0±40.0	1.7	138.7±10.8	1.2	8.0±2.6	1.0	473.0±106.9	1.1
	500	40.7±8.3	1.3	244.0±29.7**	2.2	137.3±5.5	1.1	5.7±1.2	0.7	557.3±140.0	1.3
	1000	51.3±18.2	1.6	244.0±35.4**	2.2	134.7±18.0	1.1	2.7±2.1	0.3	550.7±38.4	1.3
CP ^d	2 (2AA)	151.0±26.9***	4.8	351.0±38.2***	3.2	287.0±33.9***	2.4	64.5±7.8***	8.1	1624.0±24.8***	3.8

Legenda das tabelas: ^aNumero de revertentes/placa: media de três experimentos independentes ± SD; ^bIM: índice de mutagenicidade (nº. de *his+* induzida pela amostra/nº. de *his+* espontâneos no controle negativo); ^cCN: controle negativo (dimethylsulfoxide 10 µL, usado como um solvente para o AZO-4 e AZO-5'). ^dCP: controle positivo (-S9) NaN₃ (azida de sódio) para TA100 e TA1535; 4NQO (4-nitroquinoline N-oxide) para TA97a, TA98 e TA102; (+S9) 2AA (2-aminoanthracene); Diferença significativa em relação ao controle negativo. *** $p < 0.001$ (ANOVA, teste de Dunnett). NT: não testado.

CONCLUSÃO

O produto Azo-4' não mostrou efeito mutagênico quando testado nas linhagens TA98 e TA97a, que detectam mutações por deslocamento no quadro de leitura bem como nas linhagens TA100 e TA1535, que detectam mutações por substituição de pares de bases, na ausência e na presença de ativação metabólica (S9 mix). Resultado negativo também foi observado na linhagem TA102, que pode detectar mutações por dano oxidativo ao DNA. Azo-5' também não mostrou mutagenicidade, exceto na linhagem TA97a na presença de metabolização com aumento significativo no número de revertentes por placa e índice de mutagenicidade (IM) maior do que dois nas concentrações mais altas testadas (500 e 1000 µg/placa). Estas concentrações não foram testadas com o Azo-4' pois foram insolúveis nas condições do teste. Os resultados indicam que os compostos podem apresentar atividade mutagênica por deslocamento no quadro de leitura após metabolização, indicando a necessidade de estudos adicionais para avaliação da atividade mutagênica.

REFERÊNCIAS

- BALOGH TS, VELASCO MVB, PEDRIALI CA, KANEKO TM, BABY AR. Ultravioletradiation protection: features currently available in photoprotection. An. Bras. Dermatol. 2011; 86: 732-42.
- ARAUJO TS, SOUZA SO. Solar protectors and the effects of ultraviolet radiation. Scientia Plena. 2008; 4: 1-7.
- MONTAGNER S, COSTA A. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. Na.Bras. Dermatol. 2009; 84: 263-9.
- SÁ CS, PINHEIRO RET, GUIMARÃES ACR, FERNANDES MSB, PALÁCIOS VRCM. Conhecimentos e hábitos da fotoproteção infantil. Rev. Para. Med. 2014; 28: 45-53.
- EPSTEIN JH, LOWE NJ, SHAATH MA, PATHAK MA. Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspect. Marcel Dekker; 1990; 35-59.
- PERUGINI P, SIMEONI S, SCALIA S, GENTA I, MODENA T, CONTI B, PAVANETTO F. Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p- methoxycinnamate. Int. J. Pharm. 2002; 37-45.
- DE PAOLA MVRV, RIBEIRO ME. Interação entre filtros solares. Cosm. & Toil. 1998;10:40-50.
- MASSON P, SCOTTI L. Fotoproteção: um desafio para a cosmetologia. Cosmetics Cosmetics & Toiletries. 2003; 15:42-53.
- MORTELMANS, K; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutation Research, Amsterdam. 2000; 455:29-60.
- SZKLO AS, ALMEIDA LMD, FIGUEIREDO V, LOZANA JDA, MENDONÇA GA, MOURA LD, SZKLO M. Comportamento relativo à exposição e proteção solar na população de 15 anos ou mais de 15 capitais brasileiras e Distrito Federal. Cadernos de Saúde Pública. 2007; 23:823-34.