

ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMUTAGÊNICO DO ARTEPELIN C ATRAVÉS DE TESTE SMART

^{1,2}Débora Lemes dos Santos, ²Carmem Regine Faleiro Rodrigues, ²Rafael Rodrigues Dihl, ²Mauricio Lehmann

¹Bolsista de IC PROBIC/FAPERGS, Graduanda do Curso de Ciências Biológicas ULBRA Canoas-RS. ²Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaude), Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, Canoas, RS. mauriciol@ulbra.br

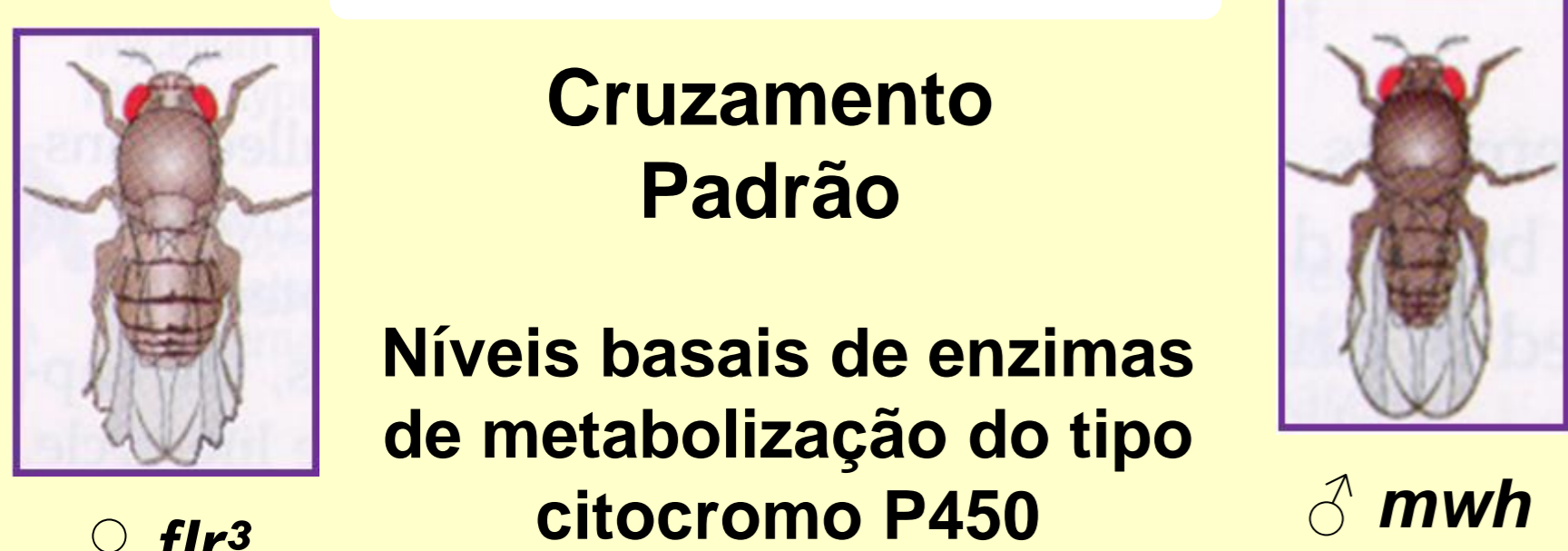
INTRODUÇÃO E OBJETIVO

O composto fenólico artepelin C (ARC) é um dos principais constituintes da própolis verde, encontrada na região sudeste e sul do Brasil, que recentemente vem sendo alvo de estudos em relação às suas atividades biológicas. Os resultados mostram que o ARC apresenta diversas atividades biológicas, como indução de apoptose, ação imuno modulatória, antioxidante, antibacteriana, antitumoral, anti-inflamatória e antiangiogênica, além de ter exercido atividade antimutagênica e antigenotóxica em alguns estudos *in vivo* e *in vitro* (Choi et al., 2011; Szliska et al., 2012). Neste sentido, com o objetivo de ampliar as investigações sobre a atividade antimutagênica do ARC o presente estudo se propôs a avaliar a atividade antimutagênica deste composto em relação aos danos induzidos pela mitomicina C (MMC) e pelo etilmetanossulfonato (EMS), através do teste para detecção de mutação e recombinação somática em *Drosophila melanogaster*. Neste sentido foram utilizados os protocolos de co- e pós-tratamento.

METODOLOGIA

TESTE SMART

Cruzamento Padrão



Níveis basais de enzimas de metabolização do tipo citocromo P450

Larvas de terceiro estágio

Atividade antimutagênica

Co-tratamento

Etanol 5%

MMC 0,05 mM

EMS 5 mM

MMC 0,05 mM ou EMS 5 mM
+
ARC (0,012; 0,025 e 0,05%)

Pós-tratamento

Tratamento agudo

Água

EMS 46 mM

MMC 0,12 mM

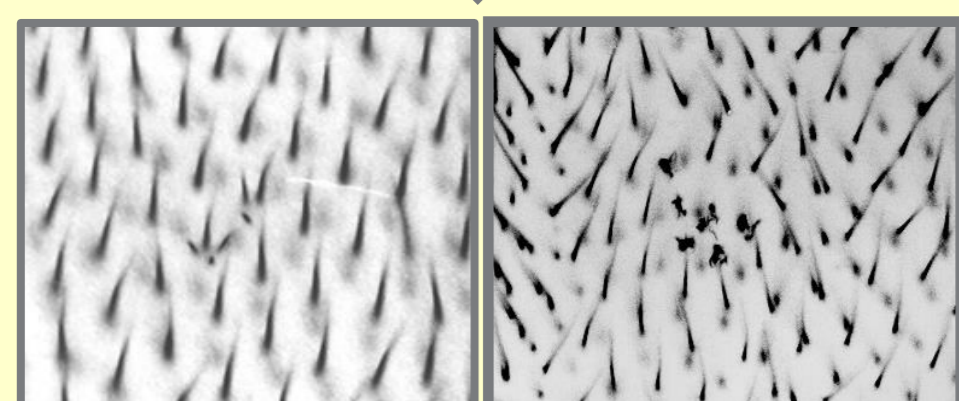
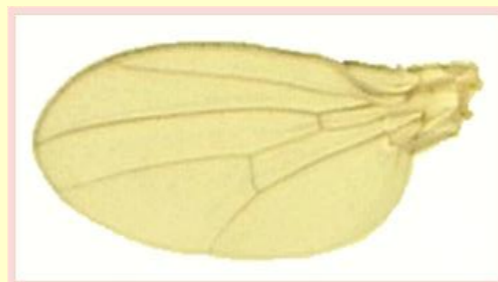
Tratamento crônico com:

ARC (0,012; 0,025 e 0,05%)

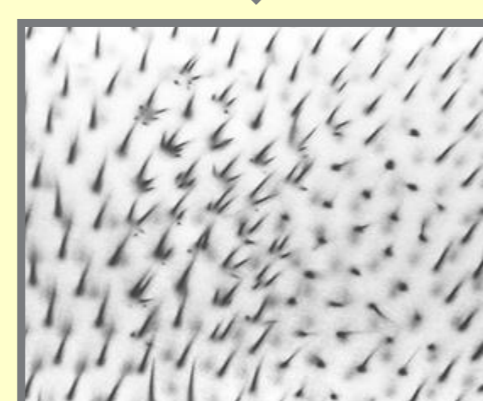
Etanol 5%

Eventos genotóxicos

Manchas com células mutantes nas asas



Manchas Simples Pequenas (MSP) e Grandes (MSG)



Manchas Gêmeas (MG)

Atividade mutagênica e recombinogênica

Atividade recombinogênica

Referências Bibliográficas

RESULTADOS

Tabela 1. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão após exposição crônica de larvas de 3º estágio ao **co-tratamento** do ARC com EMS (5 mM) ou MMC (0,05 mM).

Tratamentos	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh^c</i> (n)
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
Controle negativo (salina 0,9%)	60	0,90(54)	0,05(03)	0,05 (03)	1,00 (60)	60
Etanol 5% + EMS 5 mM	60	50,23(1970) *	16,78(1007) *	5,62 (337) *	72,63 (4358) *	4251
ARC 0,012 % + EMS 5 mM	60	56,28(1992) -	18,72(1135) -	7,80 (468) -	83,00 (4980) -	4888
ARC 0,025% + EMS 5 mM	60	51,13(1993) -	14,97(898) f+	5,73 (344) -	71,83 (4310) -	4216
ARC 0,05 % + EMS 5 mM	60	56,63(2024) -	17,78(1067) -	6,82 (409) -	81,23 (4874) -	4774
Etanol 5% + MMC 0,05 mM	60	32,83(3014) *	32,90(1974) *	13,28 (797) *	79,02 (4741) *	4588
ARC 0,012 % + MMC 0,12 mM	60	33,20(3377) -	38,60(2316) +	12,15 (729) -	83,95 (5037) -	4885
ARC 0,025% + MMC 0,12 mM	60	33,22(3068) -	33,75(2025) -	13,77 (826) -	80,73 (4844) -	4694
ARC 0,05 % + MMC 0,12 mM	60	33,73(3398) -	34,52(2071) -	12,43 (746) -	80,68 (4841) -	4702

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): *, positivo quando comparado ao controle negativo; -, negativo; f+, fraco-positivo, quando comparado ao tratamento com salina + EMS, $P \leq 0,05$. ^bIncluindo manchas simples *flr³* raras. ^cForam considerados apenas os clones *mwh* das manchas simples *mwh* e das manchas gêmeas.

Tabela 2. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* e *mwh/TM3* do cruzamento padrão após exposição aguda (3 h) de larvas de 3º estágio aos mutágenos EMS (46 mM) e MMC (0,12 mM), seguida do **pós-tratamento** com três concentrações de ARC ou etanol 5%.

Tratamentos e genótipos		N. de moscas (N)	(Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. Estatístico ^a				Total manchas <i>mwh^c</i> (n)
EMS (mM)	ARC (%)		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
0	0	60	0,80(48)	0,08(05)	0,02 (01)	0,88 (53)	53
46	0	60	6,27(376) *	5,35(321) *	3,87 (232) *	15,48 (929) *	852
46	0,012	60	4,62(277) -	4,65(279) -	4,43 (266) -	13,70 (822) -	745
46	0,025	60	5,33(320) -	5,28(317) -	3,72 (223) -	14,33 (860) -	779
46	0,05	60	6,55(393) +	5,78(347) -	3,87 (232) -	16,20 (972) -	861
MMC (mM)	ARC (%)						
<i>mwh/flr³</i>							
0	0	60	0,80(48)	0,08(05)	0,05 (03)	0,93 (56)	55
0,12	0	60	1,88(113) *	6,42(385) *	2,43 (146) *	10,73 (644) *	606
0,12	0,012	60	1,10(66) +	3,87(232) +	1,67 (100) +	6,63 (398) +	375
0,12	0,025	60	2,20(132) -	5,73(344) -	2,78 (167) -	10,72 (643) -	615
0,12	0,05	60	1,90(114) -	5,87(352) -	2,62 (157) -	10,38 (623) -	606
<i>mwh/TM3</i>							
0	0	60	0,87(52)	0,08(05)	^d	0,95 (57)	57
0,12	0	60	0,63(38) #	0,60(36) *		1,23 (74) #	74
0,12	0,012	60	0,98(59) -	0,37(22) -		1,35 (81) -	81

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): *, positivo; #, negativo, $P \leq 0,05$ vs. controle negativo; teste U Wilcoxon, Mann e Whitney: +, positivo; -, negativo; $P \leq 0,05$ vs. MMC e EMS sozinhos. ^bIncluindo manchas simples *flr³* raras. ^cForam considerados apenas os clones *mwh* das manchas simples *mwh* e das manchas gêmeas. ^dApenas manchas simples *mwh* podem ser observadas no genótipo *mwh/TM3*, visto que o cromossomo balanceador *TM3* não possuem o gene mutante *flr³*.

Discussão

- O ARC não foi capaz de modular a atividade mutagênica do EMS nos protocolos de co- e pós-tratamento (Tabela 1 e 2).
- Por outro lado, apesar de não alterar a frequência de danos induzidos pela MMC no protocolo de co-tratamento (Tabela 1), o ARC reduziu a mutagenicidade deste composto quando administrado após a indução dos danos, apenas na concentração de 0,012% (Tabela 2). Além disso, comparando os dados dos genótipos *mwh/flr³* e *mwh/TM3*, observa-se que esta modulação está associada à redução de danos genéticos originados por eventos recombinacionais (Tabela 2).
- Desta forma, somados aos dados da literatura, os dados aqui descritos indicam que dependendo da concentração de ARC podem ser desencadeadas respostas variadas, associadas à proteção contra a indução de danos no DNA, à geração de lesões genéticas e também à ativação de mecanismos de reparação do DNA, que por sua vez ocorrem por mecanismos distintos. Estes diversos efeitos podem explicar a multiplicidade de respostas que o ARC vem apresentando na literatura científica (Hata et al., 2012; De Oliveira et al., 2013).