



Estudo do potencial mutagênico e antimutagênico da miricetina através do teste SMART em *Drosophila melanogaster*

^{1,3,4}Vanessa de Souza Bizarro; ²Luciano A.A. Barros; ¹Rafael R. Dohl e ¹Maurício Lehmann

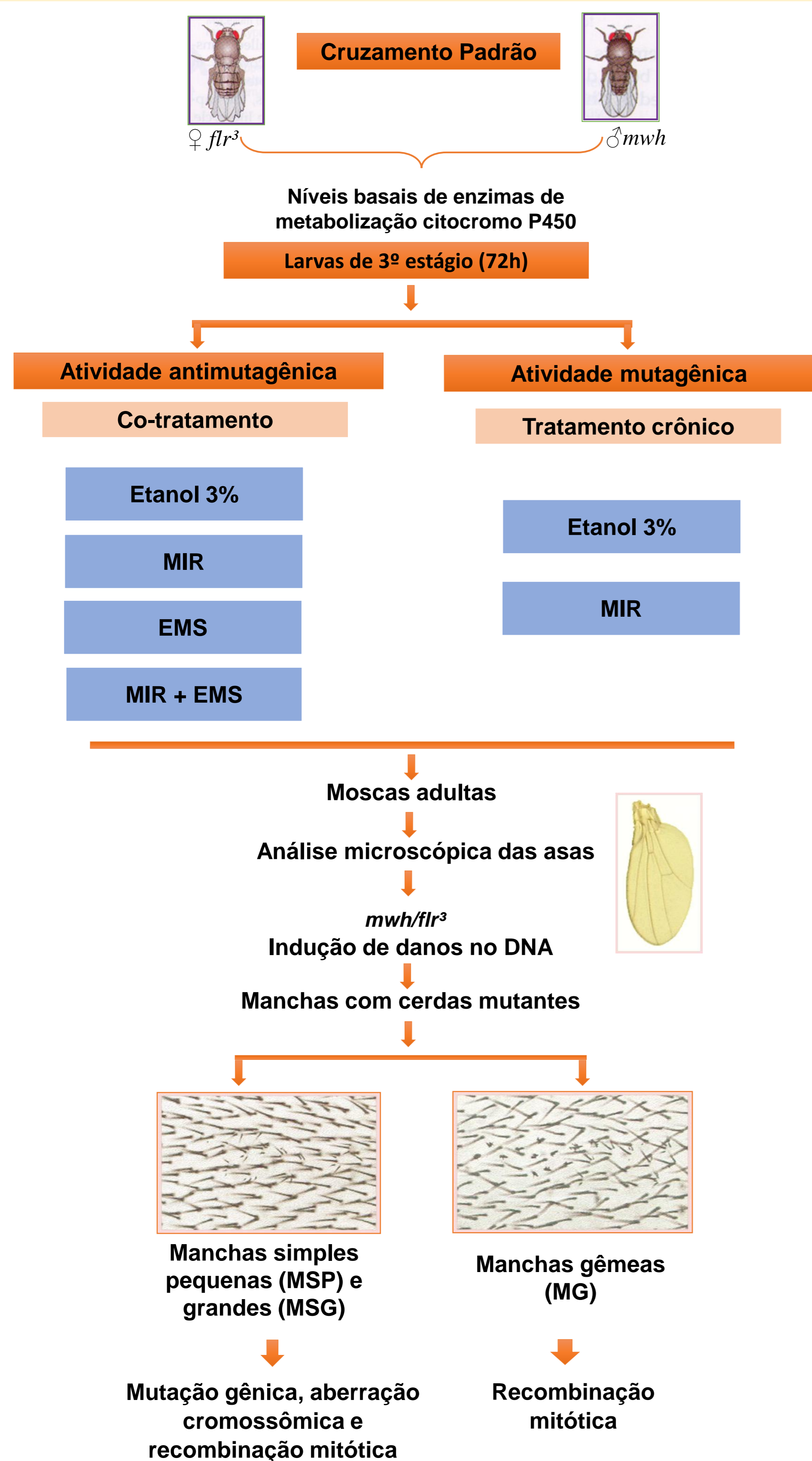
¹Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), ULBRA Canoas; ²Aluna de Doutorado do PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde); ³Bolsista de IC PROBIC/FAPERGS-ULBRA; ⁴Aluna do Curso de Biomedicina, ULBRA Canoas. mauricio@ulbra.br

Introdução

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). A miricetina (MIR) é um flavonóide comum na dieta humana sendo encontrado em frutas, chás, legumes, vinho tinto e plantas medicinais. Ela é encontrada em abundância nas espécies *Allium cepa*, *Solanum lycopersicum*, *Vitis vinifera*, *Olea europaea*, *Morus alba*, *Thea sinensis* e *Crataegus cuneata*. Este composto possui as seguintes atividades biológicas: antioxidante, antialérgico, antiaterogênico, anti-inflamatória e antiangiogênica (Li e Ding, 2012; Jayakumar 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, caracterização das propriedades individuais, e, sobretudo as dosagens necessárias desses constituintes, já que esses dados são imprescindíveis para o favorecimento da formulação de novos produtos. Neste sentido os objetivos do presente estudo foram avaliar a atividade mutagênica da MIR e estudar o potencial antimutagênico deste composto fenólico sobre os danos induzidos pelo etil-metano-sulfonato (EMS) através do teste para detecção de Mutação e Recombinação em células somáticas de *Drosophila melanogaster* (SMART).

Teste SMART



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 estatístico ^a				Total de manchas <i>mwh</i> ^c (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	25	7,92 (198) +	0,80 (20) +	0,20 (05) -	8,92 (223) +	221
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) +	62,85 (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, $p \leq 0,05$. ^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 crônica de larvas de 3º estágio ao co-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</i> ^c (n)
				Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m=2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m=5	Manchas gêmeas m=5	
0	0	0	40	1,08 (43)	0,18 (07)	0,05 (02)	1,30 (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

^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; m_2 fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$. ^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. Não foram encontradas diferenças significativas na frequência de todos os tipos de manchas nos tratamentos com MIR quando comparadas ao controle negativo. 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) em todas as concentrações utilizadas (Tabela 2).

Os flavonóides são compostos fenólicos extensamente estudados por suas propriedades antioxidantes e citoprotetoras em vários modelos biológicos. Eles podem proteger contra estresse oxidativo através do sequestro de espécies reativas, quelação do ferro (Abalea et al., 1999) e inibição de enzimas responsáveis pela geração de radicais livres (Edenharder et al., 2003). Entre os diversos compostos flavonóides com ação antioxidante destaca-se a MIR. Há fortes indícios de que MIR pode efetivamente remover uma variedade de ERO e executar sua atividade antioxidante, devido a um grande número de grupos hidroxila alternados. Também foi relatado que MIR pode reduzir significativamente o aumento da produção de radicais livres durante lesão isquêmica e melhorar o declínio do potencial de membrana mitocondrial por privação de oxigênio e glicose. Além disso, vários estudos determinaram o efeito protetor da MIR contra morte celular induzida por ERO. Por exemplo, a pré-incubação com flavonóides tais como MIR, quercetina e rutina revelaram uma proteção significativa sobre células Caco-2 e HepG2 contra danos ao DNA induzidos por peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Li e Ding, 2012).

Apesar dos dados da literatura comprovarem o efeito antioxidante da MIR, os resultados obtidos neste estudo mostram que este flavonoide 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. Estas lesões são corrigidas preferencialmente pelos mecanismos de reparo por excisão de bases e de nucleotídeos (Branda et al., 1999), além do mecanismo de reparação translesão (Bilbao et al., 2002).

Referências bibliográficas

- ABALEA, V. et al. Repair of iron-induced DNA oxidation by the flavonoid myricetin in primary rat hepatocyte cultures. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, 1457-66, 1999.
- 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.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, 191-203, 2006.