



Avaliação tóxico-genética de fármacos à base de platina através do cruzamento padrão do teste SMART em *Drosophila melanogaster*

^{1,2}Lucía Paola Facciola González, ²Natacha Allgayer, ²Rafael Rodrigues Dihl, ²Mauricio Lehmann

¹Bolsista de IC PIBIT/CNPq, Graduanda do Curso de Biologia, 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 objetivos

Muitos compostos são utilizados na quimioterapia oncológica, a maioria deles tem como mecanismo de ação a interação com o DNA, como os análogos das bases nitrogenadas, agentes intercalantes e os agentes alquilantes. Os agentes alquilantes são os mais antigos e um dos grupos de fármacos mais utilizados. A citotoxicidade destes compostos ocorre quando há formação de ligações covalentes com o DNA, interferindo na replicação e/ou transcrição, processos essenciais para a divisão celular. Dentre os agentes alquilantes, os quimioterápicos a base de platina são amplamente utilizados no tratamento de vários tipos de câncer. A ligação destes compostos ao DNA é considerada o passo crítico para a sua atividade antitumoral, mas também é indicativo de um risco para os pacientes devido ao seu potencial mutagênico. A principal via citotóxica desses compostos caracteriza-se pela formação de ligações cruzadas intercadeias ou pontes intercadeias de DNA. Apesar disto, os complexos de platina ainda são os fármacos de escolha no tratamento de aproximadamente 50 a 70% dos pacientes tratados com medicamentos antitumorais. Atualmente, apenas três fármacos a base de platina estão liberados pela Anvisa para uso clínico no Brasil: cisplatina (CIS), carboplatina (CARB) e oxaliplatina (OXA).

Considerando a escassez de informações referentes ao potencial mutagênico da oxaliplatina e a necessidade de compará-la aos demais fármacos deste grupo, o presente estudo avaliou esta atividade através do cruzamento padrão do teste para detecção de mutação e recombinação em células somáticas (SMART) de *Drosophila melanogaster*.

Metodologia

TESTE SMART

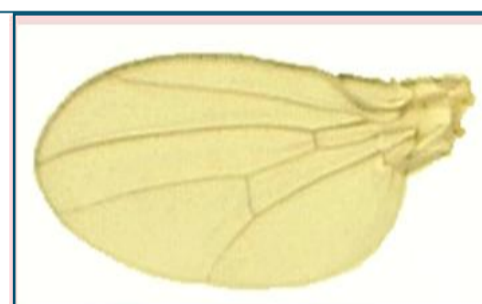
Cruzamento Padrão
Níveis basais de enzimas de metabolização do tipo citocromo P450

Larvas de terceiro estágio

Tratamentos

Controle Negativo: Água destilada
Controle Positivo: Uretano 20 mM
Cisplatina: 0,006; 0,012; 0,025 e 0,05 mM;
Carboplatina: 0,1; 0,2; 0,5 e 1 mM;
Oxaliplatina: 0,1; 0,2; 0,5; 1 e 2 mM

Eventos genotóxicos: Manchas com células mutantes nas asas



Manchas Gêmeas (MG)

Recombinação mitótica

Manchas Simples Pequenas (MSP) e Grandes (MSG)

Mutação gênica, aberração cromossômica e/ou recombinação mitótica

Resultados

Tabela 1. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão após exposição crônica de larvas de 3º estágio a cisplatina, carboplatina e oxaliplatina.

| Genótipos e Conc. (mM) | N. de Indiv. (N) | Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a | | | |
|------------------------|------------------|---|-------------------------------------|--------------|----------------|
| | | MSP (1-2 céls) ^b m = 2 | MSG (>2 céls) ^b m = 5 | MG m = 5 | TM m = 2 |
| Controle negativo | 60 | 1,48 (89) | 0,23 (14) | 0,07 (04) | 1,78 (107) |
| Uretano 20 mM | 60 | 9,17 (550) + | 1,53 (92) + | 0,28 (17) + | 10,98 (659) + |
| CIS 0.006 mM | 50 | 3,00 (150) + | 1,04 (52) + | 0,36 (18) + | 4,40 (220) + |
| CIS 0.012 mM | 50 | 4,96 (248) + | 1,82 (91) + | 0,62 (31) + | 7,40 (370) + |
| CIS 0.025 mM | 50 | 12,66 (633) + | 4,36 (218) + | 1,56 (78) + | 18,58 (929) + |
| CIS 0.05 mM | 50 | 20,16 (1008) + | 11,50 (575) + | 4,40 (220) + | 36,06 (1803) + |
| CARB 0.1 mM | 50 | 6,80 (340) + | 0,48 (24) + | 0,12 (06) i | 7,40 (370) + |
| CARB 0.2 mM | 50 | 11,00 (550) + | 0,94 (47) + | 0,10 (05) i | 12,04 (602) + |
| CARB 0.5 mM | 50 | 35,72 (1786) + | 2,10 (105) + | 0,26 (13) + | 38,08 (1904) + |
| CARB 1 mM | 50 | 86,98 (4349) + | 8,56 (428) + | 0,32 (16) + | 95,86 (4793) + |
| OXA 0.1 mM | 50 | 2,04 (102) f+ | 0,12 (06) - | 0,00 (00) - | 2,16 (108) - |
| OXA 0.2 mM | 50 | 1,60 (80) - | 0,20 (10) - | 0,02 (01) i | 1,82 (91) - |
| OXA 0,5 mM | 50 | 1,42 (71) - | 0,30 (15) i | 0,08 (04) i | 1,80 (90) - |
| OXA 1 mM | 50 | 1,40 (70) - | 0,08 (04) - | 0,06 (03) i | 1,54 (77) - |
| OXA 2 mM | 20 | 2,45 (49) + | 0,45 (09) i | 0,05 (01) i | 2,95 (59) - |

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würfler (1988), teste binominal condicional: -, negativo; i, inconclusivo, quando comparado ao controle negativo. ^bIncluindo manchas simples *flr³* raras. ^cForam considerados apenas os clones *mwh* das manchas simples *mwh* e das manchas gêmeas.

Conclusões Parciais

Os resultados obtidos mostram que a CIS nas concentrações de 0,006; 0,012; 0,025 e 0,05 mM, e a CARB, nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,5 e 1 mM, aumentaram a frequência de danos genéticos em todas as concentrações utilizadas, apresentando uma evidente relação dose-efeito. Por outro lado, a OXA não apresentou atividade mutagênica nas concentrações de 2; 1; 0,5; 0,2 e 0,1 mM. Desta forma, os resultados apresentados neste estudo demonstram que o fármaco OXA apresenta comportamento distinto das demais drogas no que se refere à atividade mutagênica. Enquanto a CIS e CARB mostram-se potentes indutores de danos genéticos, a OXA, em concentrações iguais e até 40x superiores, não foi capaz de induzir lesões no material genético. Desta forma, somados aos dados descritos na literatura, os resultados do presente trabalho indicam haver diferenças importantes no padrão de indução de lesões genéticas e também em relação aos mecanismos de reparação do DNA envolvidos na correção destes danos.

Referências

- Schmitt SM, Frezza M, Dou QP. New applications of old metal-binding drugs in the treatment of human cancer. *NIH Public Front Biosci.* 2013;4: 375-91.
- Theiner S, Varbanov HP, Galanski M, Egger AE, Berger W, Heffeter P, Keppler BK. Comparative in vitro and in vivo pharmacological investigation of platinum(IV) complexes as novel anticancer drug candidates for oral application. *J Biol Inorg Chem.* 2015;20(1): 89-99.
- Wu B, Davey GE, Nazarov AA, Dyson PJ, Davey CA. Specific DNA structural attributes modulate platinum anticancer drug site selection and cross-link generation. *Nucleic Acids Res.* 2011;39: 8200-12.