



Avaliação do potencial mutagênico de fármacos à base de platina através do cruzamento aprimorado do teste SMART em *Drosophila melanogaster*

^{1,4}Rodrigo Antonio de Campos; ^{2,3}Natacha Allgayer; ³Rafael Rodrigues Dihl e ³Mauricio Lehmann

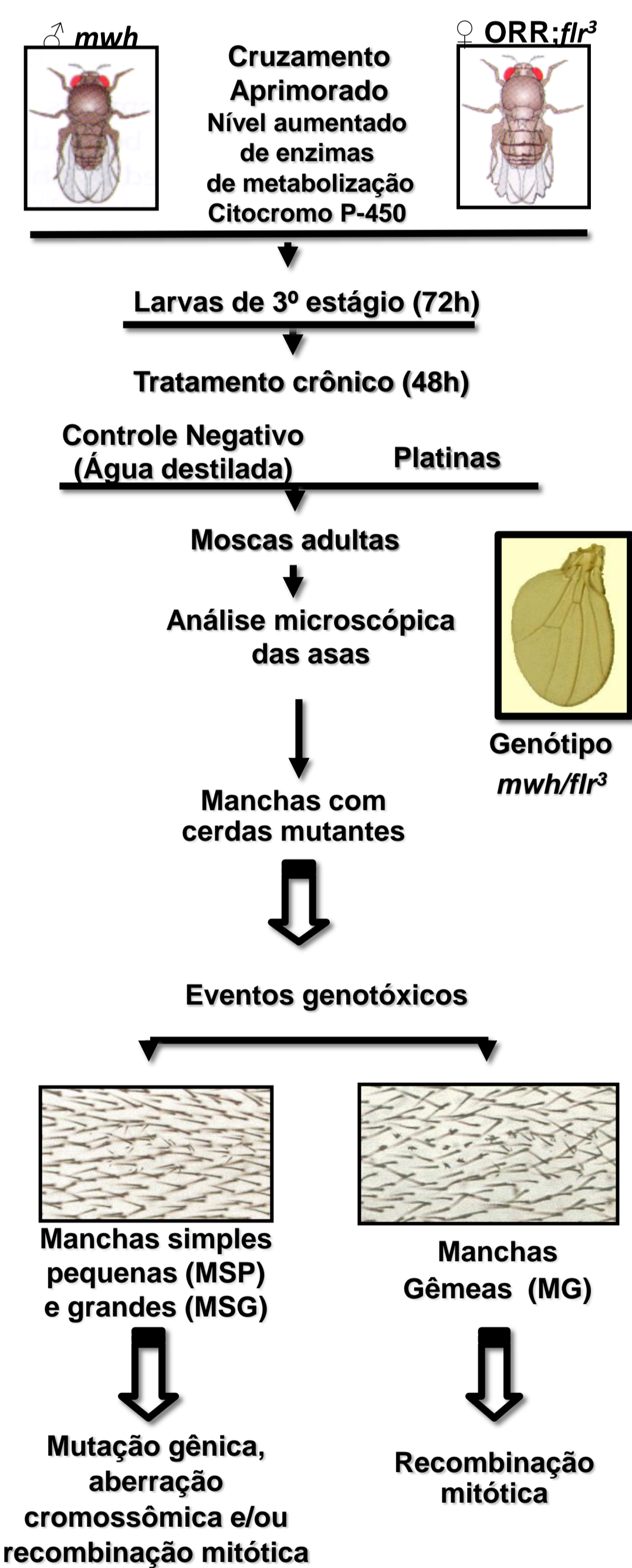
¹Bolsista IC PIBITI/CNPQ, Aluno do Curso de Biomedicina, ULBRA Canoas/RS, ²Aluna de Doutorado, PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBIOSAÚDE), ³Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPGBIOSAÚDE, ULBRA Canoas-RS. mauriciol@ulbra.br

Introdução

A maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não-específica lesando tanto células malignas quanto normais, resultando em diferentes efeitos colaterais (Harper et al., 2010; INCA, 2014). Os agentes alquilantes a base de platina, como a cisplatina (CIS), carboplatina (CARB) e oxaliplatina (OXA), fazem parte de desse grupo de fármacos e são a escolha no tratamento de aproximadamente 50% dos pacientes com câncer (Theiner et al., 2015).

Com base nesses dados, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade mutagênica destes quimioterápicos através do teste para detecção de mutação e recombinação em células somáticas (SMART) utilizando o cruzamento aprimorado de *Drosophila melanogaster*, que apresentam níveis aumentados das enzimas de metabolização do tipo citocromo P450.

Metodologia

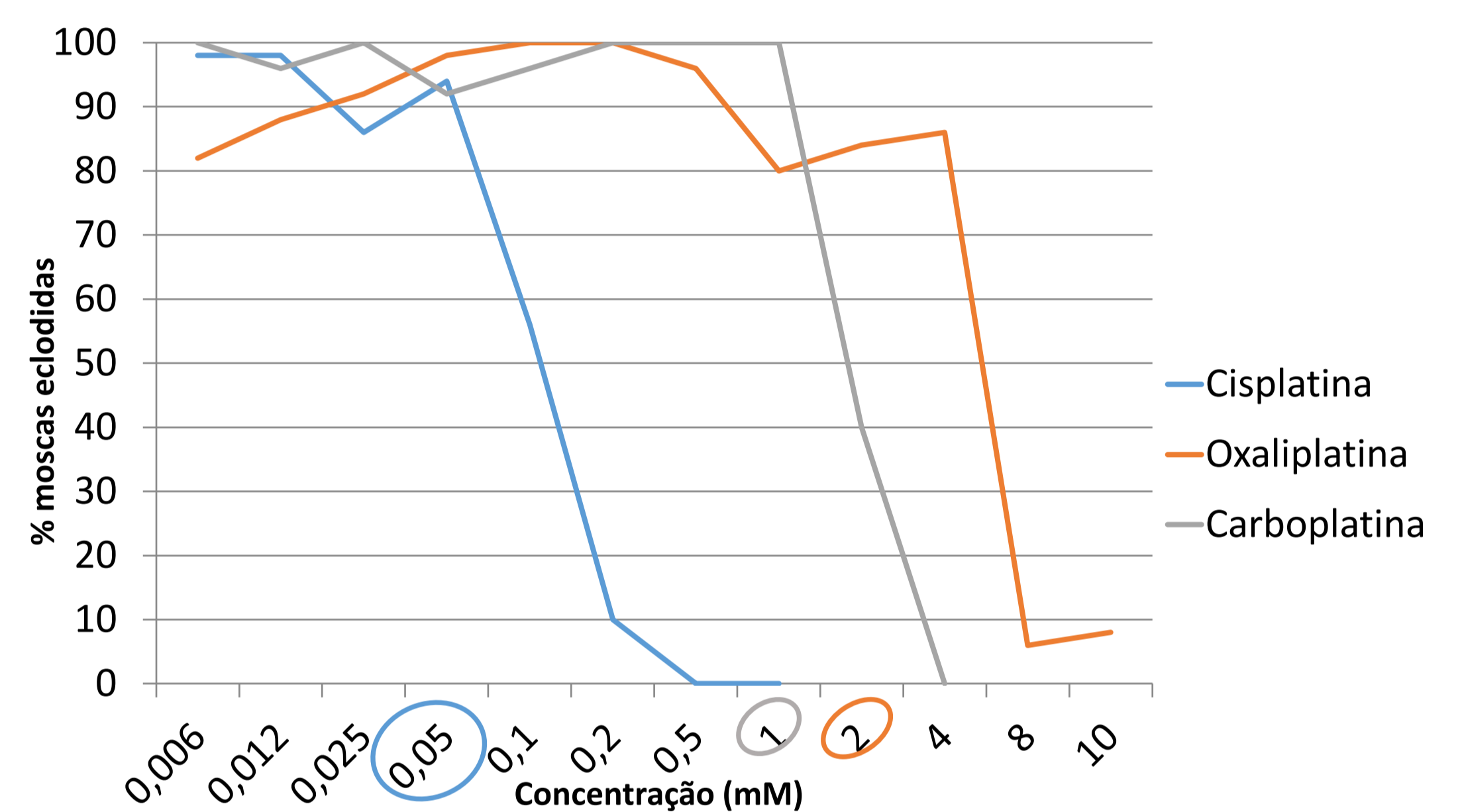


Ensaio de Toxicidade

Para definir as concentrações a serem testadas foi realizado um ensaio de toxicidade (Figura 1). Foram colocadas 100 larvas em cada tubo de tratamento e selecionadas as concentrações que apresentaram uma taxa de sobrevivência $\geq 70\%$.

As concentrações estabelecidas foram:
CIS: 0,006; 0,012; 0,025 e 0,05 mM
CARB: 0,1; 0,2; 0,5 e 1 mM
OXA: 0,1; 0,2; 0,5; 1 e 2 mM

Figura 1. Porcentagem de moscas do cruzamento aprimorado nascidas vivas após a exposição crônica de larvas de terceiro estágio a diferentes concentrações dos fármacos CIS e OXA.



Resultados

Tabela 1: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr3* do cruzamento aprimorado 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				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
<i>mwh/flr3</i>						
Controle negativo	30	1,63(49)	0,17 (05)	0,07 (02)	1,87(56)	55
Uretano 20 mM	30	25,63(769) +	4,37 (131)+	1,60 (48)+	31,60(948) +	937
CIS 0.006 mM	50	5,22(261) +	1,08 (54)+	0,20 (10)i	6,50(325) +	325
CIS 0.012 mM	50	9,28(464) +	2,16 (108)+	0,54 (27)+	11,98(599) +	599
CIS 0.025 mM	30	9,93(298) +	2,27 (68)+	0,60 (18)+	12,80(384) +	383
CIS 0.05 mM	42	13,19(554) +	5,74 (241)+	1,57 (66)+	20,50(861) +	861
CARB 0.05 mM	30	5,80(174) +	0,90 (27)+	0,07 (02)i	6,77(203) +	203
CARB 0.1 mM	29	8,48(246) +	0,86 (25)+	0,07 (02)i	9,41(273) +	273
CARB 0.2 mM	30	17,50(525) +	1,03 (31)+	0,13 (04)i	18,67(560) +	560
CARB 0.5 mM	35	43,63(1527)+	2,94 (103)+	0,06 (02)i	46,63(1632) +	1632
CARB 1 mM	30	76,70(2301)+	6,93 (208)+	0,20 (06)i	83,83(2515) +	2515
OXA 0.1 mM	30	4,07(122) +	0,63 (19)+	0,03 (01)i	4,73(142) +	142
OXA 0.2 mM	25	4,52(113) +	0,68 (17)+	0,08 (02)i	5,28(132) +	132
OXA 0.5 mM	40	3,78(151) +	0,40 (16)i	0,00 (00)i	4,18(167) +	167
OXA 1 mM	40	3,15(126) +	0,28 (11)i	0,03 (01)i	3,45(138) +	138
OXA 2 mM	20	6,10(122) +	0,50 (10)+	0,15 (03)i	6,75(135) +	135

^aTratamento estatístico feito através do teste binomial condicional. ^bDiagnóstico condicional estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$. ^cIncluindo manchas simples *flr3* raras. ^dConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas. ^eApenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM3*, já que o cromossomo balanceador TM3 não contém o gene mutante *flr3*.

Referências

- HARPER, B. W., et al. Advances in platinum chemotherapeutics. *Chemistry - A European Journal*, v. 16, p. 7064-7077, 2010.
- INCA, Instituto Nacional de Câncer. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer**, 2016. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/index.asp?ID=1> Acesso em: 14/12/2016.
- THEINER, S., et al. Comparative in vitro and in vivo pharmacological investigation of platinum(IV) complexes as novel anticancer drug candidates for oral application. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, v. 20, p. 89-99, 2015.

Discussão

Os três fármacos testados aumentaram a frequência de danos genéticos em todas as concentrações utilizadas. A CIS e a CARB apresentam uma evidente relação dose-efeito, diferentemente da OXA, onde não é possível observar esta relação. A OXA apresentou menor frequência de manchas totais, sugerindo uma menor capacidade mutagênica quando comparada a CIS e a CARB. Ao compararmos os dados deste estudo ao de outra investigação, realizada em paralelo, onde foram avaliadas as mesmas concentrações dos fármacos no cruzamento padrão do teste SMART, que apresenta níveis basais de CYP450, observamos que a OXA apresentou atividade mutagênica apenas na presença de níveis altos destas enzimas. Isso indica que esse fármaco sofre algum tipo de metabolização, com a participação destas enzimas.