



ESTUDO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DE FÁRMACOS À BASE DE PLATINA ATRAVÉS DO TESTE SMART EM *Drosophila melanogaster*

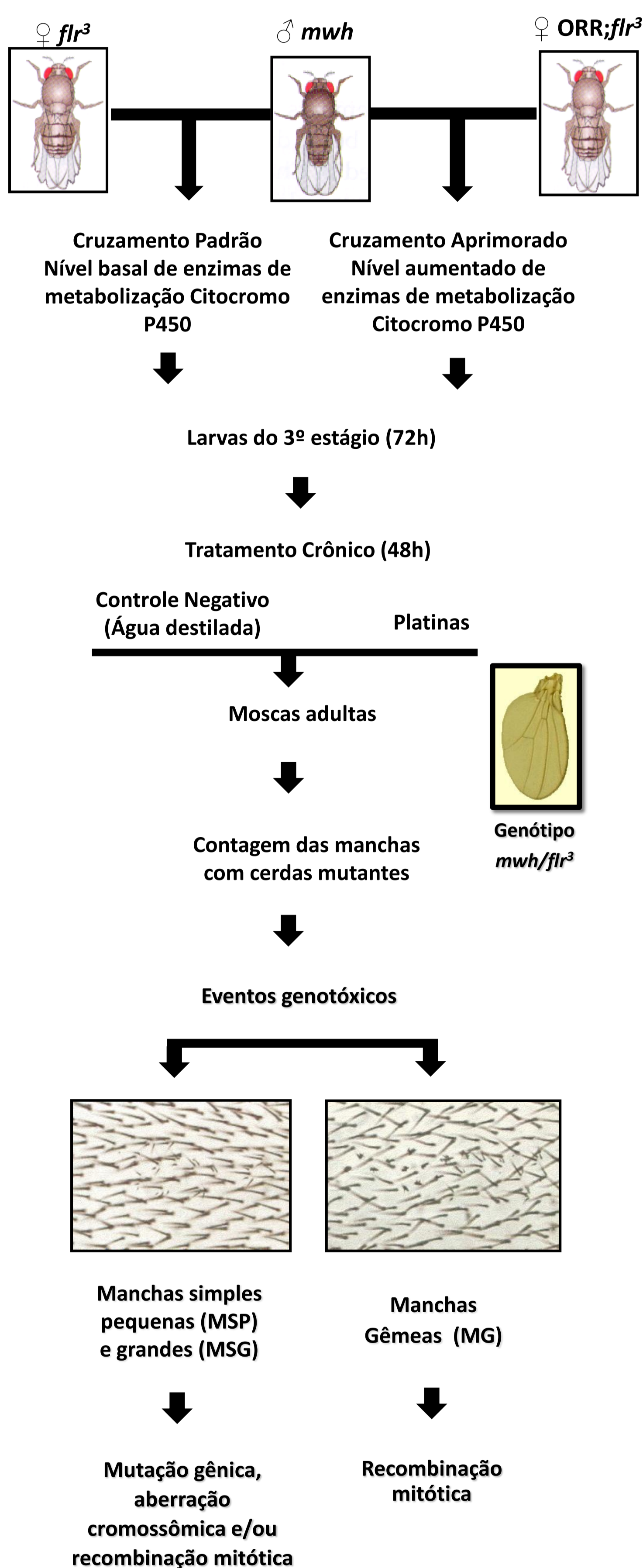
¹Rodrigo Antonio de Campos; ²Natacha Allgayer; e ³Mauricio Lehmann

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), ⁴Orientador, Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPGBIOSAÚDE, ULBRA Canoas-RS.

Introdução

Cisplatina (CIS), carboplatina (CARB) e oxaliplatina (OXA) são agentes alquilantes amplamente utilizados em terapias antineoplásicas, sendo escolha no tratamento de aproximadamente 50% dos pacientes com câncer (Theiner et al., 2015). O seu objetivo principal é a destruição das células neoplásicas, preservando as normais. Entretanto, como a maioria dos agentes quimioterápicos, elas atuam de forma não-específica, lesando tanto células malignas quanto normais (Harper et al., 2010; INCA, 2014). 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) de *Drosophila melanogaster*.

Metodologia



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 concentrações	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (nº de manchas) diagnóstico estatístico ^a				Total de manchas <i>mwh</i> ^d (n)
		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m = 5	Manchas gêmeas ^c m = 5	Total de manchas m = 2	
<i>mwh/flr3</i>						
Controle negativo	60	1,47(88)	0,18(11)	0,07(04)	1,72(103)	101
Uretano 20 mM	60	9,17(550) +	1,53(92) +	0,28(17) +	10,98(659) +	652
CIS 0.006 mM	50	3,00(150) +	1,04(52) +	0,36(18) +	4,40(220) +	217
CIS 0.012 mM	50	4,96(248) +	1,82(91) +	0,62(31) +	7,40(370) +	363
CIS 0.025 mM	50	12,66(633) +	4,36(218) +	1,56(78) +	18,58(929) +	920
CIS 0.05 mM	50	20,16(1008) +	11,50(575) +	4,40(220) +	36,06(1803) +	1765
CARB 0.1 mM	50	6,80(340) +	0,48(24) +	0,12(06) -	7,40(370) +	370
CARB 0.2 mM	50	11,00(550) +	0,94(47) +	0,10(05) -	12,04(602) +	601
CARB 0.5 mM	50	35,72(1786) +	2,10(105) +	0,26(13) +	38,08(1904) +	1902
CARB 1 mM	50	86,98(4349) +	8,56(428) +	0,32(16) +	95,86(4793) +	4793
OXA 0.1 mM	50	2,04(102) -	0,12(06) -	0,00(00) -	2,16(108) -	108
OXA 0.2 mM	50	1,60(80) -	0,20(10) -	0,02(01) -	1,82(91) -	90
OXA 0.5 mM	50	1,42(71) -	0,30(15) -	0,08(04) -	1,80(90) -	90
OXA 1 mM	50	1,40(70) -	0,08(04) -	0,06(03) -	1,54(77) -	77
<i>mwh/TM3</i>						
Controle negativo	40	1,90(76)	0,35(14)		2,25(90)	90
CIS 0.006 mM	40	3,03(121) +	0,65(26) +		3,68(147) +	147
CIS 0.012 mM	40	3,30(132) +	0,85(34) +		4,15(166) +	166
CIS 0.025 mM	40	7,08(283) +	1,48(59) +		8,55(342) +	342
CIS 0.05 mM	40	11,45(458) +	2,68(107) +		14,13(565) +	565
CARB 0.1 mM	40	5,55(222) +	0,40(16) -		5,95(238) +	238
CARB 0.2 mM	40	9,13(365) +	0,50(20) -		9,63(385) +	385
CARB 0.5 mM	40	30,45(1218) +	1,83(73) +		32,28(1291) +	1291
CARB 1 mM	40	69,08(2763) +	6,25(250) +		75,33(3013) +	3013

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988): +, positivo; -, negativo, quando comparado ao controle negativo (água deionizada e destilada). *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$. ^bIncluindo manchas simples *flr3* raras. ^cApenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM3*, já que o cromossomo balanceador *TM3* não contém o gene mutante *flr3*. ^dConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Tabela 2. Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr3* do cruzamento aprimorado após exposição crônica de larvas de 3º estágio à cisplatina, carboplatina e oxaliplatina.

Genótipos e concentrações	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (nº de manchas) diagnóstico estatístico ^a				Total de manchas <i>mwh</i> ^d (n)
		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m = 5	Manchas gêmeas ^c m = 5	Total de manchas m = 2	
<i>mwh/flr3</i>						
Controle negativo	60	2,43(146)	0,42(25)	0,08(05)	2,93(176)	175
Uretano 20 mM	40	31,38(1255) +	9,90(396) +	1,98(79) +	43,25(1730) +	1712
CIS 0.006 mM	50	5,22(261) +	1,08(54) +	0,20(10) -	6,50(325) +	324
CIS 0.012 mM	50	9,28(464) +	2,16(108) +	0,54(27) +	11,98(599) +	594
CIS 0.025 mM	50	21,48(1074) +	4,94(247) +	0,76(38) +	27,18(1359) +	1348
CIS 0.05 mM	48	22,52(1081) +	8,52(409) +	2,35(113) +	33,40(1603) +	1594
CARB 0.1 mM	50	8,24(412) +	0,76(38) +	0,10(05) -	9,10(455) +	460
CARB 0.2 mM	50	17,48(874) +	0,90(45) +	0,10(05) -	18,48(924) +	924
CARB 0.5 mM	50	41,18(2059) +	3,02(151) +	0,08(04) -	44,28(2214) +	2210
CARB 1 mM	50	83,44(4172) +	9,12(456) +	0,16(08) -	92,72(4636) +	4632
OXA 0.1 mM	50	3,00(150) -	0,48(24) -	0,04(02) -	3,52(176) -	176
OXA 0.2 mM	50	3,10(155) -	0,50(25) -	0,02(01) -	3,62(181) -	181
OXA 0.5 mM	50	3,64(182) +	0,36(18) -	0,00(00) -	4,00(200) +	200
OXA 1 mM	50	3,06(153) -	0,26(13) -	0,02(01) -	3,34(167) -	138
<i>mwh/TM3</i>						
Controle negativo	40	3,20(128)	0,43(17)	d	3,63(145)	145
CIS 0.006 mM	40	3,33(133) -	0,83(33) +		4,15(166) -	166
CIS 0.012 mM	40	5,68(227) +	1,18(47) +		6,85(274) +	274
CIS 0.025 mM	40	10,63(425) +	2,10(84) +		12,73(509) +	509
CIS 0.05 mM	30	12,67(380) +	2,93(88) +		15,60(468) +	468
CARB 0.1 mM	40	6,18(247) +	0,70(28) i		6,88(275) +	275
CARB 0.2 mM	40	12,05(482) +	1,23(49) +		13,28(531) +	531
CARB 0.5 mM	40	33,13(1325) +	2,98(119) +		36,10(1444) +	1444
CARB 1 mM	40	63,68(2547) +	8,98(359) +		72,65(2906) +	2906
OXA 0.5 mM	40	3,08(123) -	0,73(29) i		3,80(152) -	152

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988): +, positivo; -, negativo, quando comparado ao controle negativo (água deionizada e destilada). *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$. ^bIncluindo manchas simples *flr3* raras. ^cApenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM3*, já que o cromossomo balanceador *TM3* não contém o gene mutante *flr3*. ^dConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Discussão

Os resultados obtidos referentes à toxicidade-genética dos fármacos CIS e CARB, mostram que ambos foram capazes de induzir alta frequência de danos no DNA nos dois cruzamentos utilizados e apresentaram uma clara relação dose-efeito (Tabela 1 e 2).

Quando comparamos os resultados do cruzamento aprimorado (Tabela 2) com os dados obtidos com o cruzamento padrão (Tabela 1), que apresenta níveis basais de enzimas de metabolização CYP450, observa-se que a CIS e a CARB apresentam resultados similares, mostrando que não há interferência destas enzimas sobre a atividade genotóxica. Entretanto, para a OXA, enquanto os resultados obtidos com o cruzamento padrão indicaram ausência de toxicidade genética, no cruzamento aprimorado este fármaco mostrou-se genotóxico, apenas na concentração de 0,5 mM, o que pode indicar uma possível participação das enzimas CYP450 na metabolização deste fármaco.

Conclusão

Os resultados apresentados neste estudo somados a estudos prévios demonstram que os fármacos CIS, CARB e OXA apresentam comportamentos distintos no que se refere à atividade mutagênica. Enquanto a CIS e CARB mostram-se potentes indutores de danos genéticos tanto no cruzamento padrão quanto no aprimorado, a OXA, não foi capaz de induzir lesões no material genético quando utilizado o cruzamento padrão, porém mostrou-se genotóxico no cruzamento aprimorado. Desta forma, somados aos dados descritos na literatura, os resultados do presente trabalho indicam haver diferenças importantes no padrão de indução de lesões genéticas, nos mecanismos de reparação do DNA envolvidos na correção destes danos e nos aspectos relacionados à interação com as enzimas CYP450.