

# **18. Genética e Biologia Molecular**

## Oral - Pesquisa

## Genética e Biologia Molecular

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIGENOTÓXICOS E ANTIMUTAGÊNICOS DO TRATAMENTO COM O SUCO DE MALPIGHIA EMARGINATA DC. SOBRE À DIETA CAFETERIA EM CAMUNDONGOS**

CORDOVA, V. H. S., LEFFA, D. D., DAMIANI, A. P., DAJORI, A. L. F., ANDRADE, V. M.

victorhugocordova@hotmail.com, daniela\_leffa@yahoo.com.br, drykadamiani@hotmail.com, luizadajori@hotmail.com, vma@unesc.net

Palavras-chave: acerola, antigenotoxicidade, obesidade, dieta cafeteria

**Introdução**

A obesidade é um distúrbio do metabolismo energético. Esta doença está associada a diversas patologias e complicações, como produção de radicais livres, inflamação crônica, níveis elevados de lipídeos, danos teciduais e diminuição da capacidade antioxidante. O consumo de alimentos altamente energéticos e processados aumenta o risco de obesidade e a probabilidade de várias doenças que induzem a formação de espécies reativas de oxigênio, desencadeando o estresse oxidativo<sup>1</sup>. O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio, criado pela excessiva geração de oxidantes e/ou uma diminuição da capacidade antioxidante de enzimas específicas. As espécies reativas de oxigênio geradas in vivo podem causar danos às biomoléculas e desencadear cascatas sinalizadoras que levam à estimulação do crescimento celular. A superprodução crônica de espécies reativas de oxigênio existentes na obesidade podem induzir alterações mutagênicas, danificando proteínas de reparo do DNA contribuindo para o desenvolvimento do câncer. Entretanto é sabido que componentes dietéticos como frutas e vegetais, são fontes de carotenoides, polifenóis, vitaminas e minerais, que possuem capacidade antioxidante, neutralizando espécies reativas de oxigênio, e assim atuando na prevenção de várias doenças. Frutas como a acerola (*Malpighia emarginata* DC.) possuem alto valor nutricional e são ricas em polifenóis e carotenoides<sup>2</sup>. Os polifenóis consistem em um grupo heterogêneo de substâncias que retardam a velocidade da oxidação por meio de mecanismos como inibição de radicais livres e complexação de metais<sup>3</sup>. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos antigenotóxicos e antimutagênicos do suco de *M. emarginata* DC. em camundongos submetidos à dieta cafeteria.

**Metodologia**

Utilizou-se 36 camundongos albinos Swiss machos jovens, que foram tratados com a dieta cafeteria (caf). após 13 semanas do tratamento, os animais foram divididos e receberam 6 diferentes tratamentos por via oral durante 4 semanas: CAF + água, CAF + suco acerola verde, CAF + suco de acerola madura, CAF + suco de acerola industrial, CAF + vitamina C e CAF + rutina. Após o término, amostras de sangue foram coletadas para a realização do ensaio cometa. Posteriormente, os animais foram mortos por deslocamento cervical. Retirou-se a medula óssea dos fêmures para o teste de micronúcleos.

**Resultados e Discussão**

No ensaio cometa para frequência e índice de danos, todos os grupos, com exceção do grupo CAF + vitamina C, demonstraram níveis menores de dano ao DNA em comparação ao grupo CAF (p

**Conclusão**

Nosso estudo demonstrou uma potencial capacidade antimutagenica e antigenotóxica associada aos sucos de acerola (madura, imatura, industrial).

**Referências Bibliográficas**

- 1 LOIS K. et al. Obesity and diabetes. *Endocrinology and Nutrition* 56: 38?42. 2009.
- 2 PIETA, P. G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural Products*, Washington, v. 63, n. 7, 2000.
- 3 NUNES, R. S. et al. Antigenotoxicity and Antioxidant Activity of Acerola Fruit (*M. glabra* L.) at Two Stages of Ripeness. *Plant Foods Hum Nutr.* 2011

4 KHAL, V. F. S. ; SARMENTO, M. S.; NUNES, R. S et al. Análise dos potenciais antígenotóxico e antioxidante de duas variedades de acerola (Malpighia glabra L.).

**Fonte Financiadora**

UNESC e CNPq.

## Oral - Pesquisa

## Genética e Biologia Molecular

**INFLUÊNCIA DE SUCOS DE HORTALIÇAS FONTE DE LUTEÍNA E BETA-CAROTENO SOBRE A GENOTOXICIDADE INDUZIDA POR AGENTES ALQUILANTES EM CAMUNDONGOS**

LONGARETTI, L. M., FAGUNDES, G. E., LEFFA, D. D., DAMIANI, A. P., ANDRADE, V. M.

luhmartins@hotmail.com, gabrielaefagundes@hotmail.com, daniela\_leffa@yahoo.com.br, drykadamiani@hotmail.com, vma@unesc.net

Palavras-chave: Luteína, Beta-caroteno, Sucos couve, suco verde, Genotoxicidade, Ensaio Cometa.

**Introdução**

Os carotenóides representam um dos compostos bioativos mais estudados na atualidade, e se classificam em carotenos e xantofilas, que são representados principalmente por beta-caroteno e luteína, respectivamente. Estudos recentes têm associado às funções alegadas a esses carotenóides na sua forma sintética com proteção a danos causados ao DNA. Portanto, esses carotenóides são importantes pois suas características estruturais têm a capacidade de captar radicais livres, atuando, por exemplo, com função protetora contra o câncer, inibição da proliferação celular e aumento da resposta imune. com isso, o objetivo desse trabalho foi Avaliar in vivo o efeito do suco de couve, e do suco verde comercial, além da luteína isolada e do beta-caroteno isolado, sobre a genotoxicidade induzida pelos agentes alquilantes metil metanosulfonato (MMS) e ciclofosfamida (CP), utilizando o Ensaio Cometa.

**Metodologia**

Foram utilizados 138 camundongos albinos Swiss machos adultos, pesando 30 a 45 g, obtidos do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram divididos em 23 grupos, com 6 camundongos por grupo. As células sanguíneas dos camundongos foram expostas à agente mutagênicos (CP e MMS), suco natural de couve, suco verde comercial, luteína na dose de 0,2 mg/kg de peso corporal, beta-caroteno na dose de 2,5 mg/kg de peso corporal, e água. Após os tratamentos foram coletadas amostras de sangue de todos os animais através de incisão na extremidade da cauda para a realização do Ensaio Cometa de acordo com Tice et al., (2000) e Collins et al., (1997) nos tempos 24h e 48h.

**Resultados e Discussão**

Para a análise da genotoxicidade pelo ensaio cometa, tanto os carotenóides isolados, como os sucos administrados causaram baixos índices de danos nas células sanguíneas dos animais tratados. Os valores foram semelhantes ao grupo controle negativo e bem

abaixo dos valores encontrados nos grupos controle positivos. Esses resultados demonstram que os carotenóides administrados, o suco de couve in natura e o suco verde comercial não exerceram atividade genotóxica, além de comprovar a eficiência da técnica. Para as avaliações de antigenotoxicidade observou-se uma redução nos índices e frequências de danos induzidos por ambos os agentes alquilantes por ambos os sucos e compostos ativos isolados. No que se refere ao pré-tratamento com a luteína e o beta-caroteno, observou-se uma redução de danos ao DNA nos grupos tratados com MMS de 18,5% e 24,6%, respectivamente. Os grupos que receberam os sucos no pré-tratamento apresentaram redução de dano maior que 50%, isso se deve ao fato de os sucos apresentarem uma mistura complexa de compostos bioativos, fibras, e outros nutrientes. Já os que receberam os compostos sintéticos isolados apresentaram uma redução de aproximadamente 20%. No pós-tratamento o reparo de dano se manteve semelhante ao pré-tratamento. Portanto os carotenóides utilizados neste estudo possuem um efeito protetor e modulatório sobre as células dos animais, podendo ser considerados possíveis agentes antigenotóxicos, desativando espécies reativas de oxigênio e captando radicais livres.

**Conclusão**

Os sucos utilizados no estudo, assim como os carotenóides sintéticos não apresentaram ação genotóxica. Além disso, apresentaram ação protetora e de reparo no pré e pós-tratamento, respectivamente. Foi observado efeito benéfico mais acentuado nos grupos que receberam os sucos, mostrando que o sinergismo dos compostos

presentes no alimento foi mais eficaz comparado aos compostos sintéticos isolados.

### **Referências Bibliográficas**

AZQUETA,A.; COLLINS, A. R.; Carotenoids and DNA damage. Mutation Research, n 1; v.733(1-2), p. 4-13, 2012.

COLLINS, A.R.; DOBSON, V.L.; DUSINSKÁ, M.; KENNEDY, G.; STĚTINA, R.; The coemt assay: what can it really tell us?. Mutation Research, v. 375, p. 183-93, 1997.

TICE,R. R.; AGURELL,E.; ANDERSON,D.; BURLINSON,B.; HARTMANN,A.; KOBAYASHI,H.; MIYAMAE,Y.; ROJAS,E.; RYU,J. C.; SASAKI,Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing.Environmental and Molecular Mutagenesis, North Carolina, v. 35, p. 206-221, 2000.

## INFLUÊNCIA DE SUCOS DE HORTALIÇAS FONTE DE LUTEÍNA E BETA-CAROTENO SOBRE A GENOTOXICIDADE INDUZIDA POR AGENTES ALQUILANTES EM CAMUNDONGOS

LONGARETTI, L. M., FAGUNDES, G. E., DAMIANI, A. P., LEFFA, D. D., ANDRADE, V. M.

luhmartins@hotmail.com, gabrielaefagundes@hotmail.com, drykadamiani@hotmail.com, daniela\_leffa@yahoo.com.br, vma@unesc.net

*Palavras-chave:* Luteína, Beta-caroteno, Sucos couve, suco verde, Genotoxicidade, Ensaio Cometa

### Introdução

Os carotenóides representam um dos compostos bioativos mais estudados na atualidade, e se classificam em carotenos e xantofilas, que são representados principalmente por beta-caroteno e luteína, respectivamente. Estudos recentes têm associado às funções alegadas a esses carotenóides na sua forma sintética com proteção a danos causados ao dna. Portanto, esses carotenóides são importantes pois suas características estruturais têm a capacidade de captar radicais livres, atuando, por exemplo, com função protetora contra o câncer, inibição da proliferação celular e aumento da resposta imune. Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar in vivo o efeito do suco de couve, e do suco verde comercial, além da luteína isolada e do beta-caroteno isolado, sobre a genotoxicidade induzida pelos agentes alquilantes metil metanosulfonato (MMS) e ciclofosfamida (CP), utilizando o ensaio cometa.

### Metodologia

Foram utilizados 138 camundongos albinos Swiss machos adultos, pesando 30 a 45 g, obtidos do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram divididos em 23 grupos, com 6 camundongos por grupo. As células sanguíneas dos camundongos foram expostas à agente mutagênicos (CP e MMS), suco natural de couve, suco verde comercial, luteína na dose de 0,2 mg/kg de peso corporal, beta-caroteno na dose de 2,5 mg/kg de peso corporal, e água. Após os tratamentos foram coletadas amostras de sangue de todos os animais através de incisão na extremidade da cauda para a realização do Ensaio Cometa de acordo com Tice et al., (2000) e Collins et al., (1997) nos tempos 24h e 48h.

### Resultados e Discussão

Para a análise da genotoxicidade pelo ensaio cometa, tanto os carotenóides isolados, como os sucos administrados causaram baixos índices de danos nas células sanguíneas dos animais tratados. Os valores foram semelhantes ao grupo controle negativo e bem abaixo dos valores encontrados nos grupos controle positivos. Esses resultados demonstram que os carotenóides administrados, o suco de couve in natura e o suco verde comercial não exerceram atividade genotóxica, além de comprovar a eficiência da técnica. Para as avaliações de antigenotoxicidade observou-se uma redução nos índices e frequências de danos induzidos por ambos os agentes alquilantes por ambos os sucos e compostos ativos isolados. No que se refere ao pré-tratamento com a luteína e o beta-caroteno, observou-se uma redução de danos ao DNA nos grupos tratados com MMS de 18,5% e 24,6%, respectivamente. Os grupos que receberam os sucos no pré-tratamento apresentaram redução de dano maior que 50%, isso se deve ao fato de os sucos apresentarem uma mistura complexa de compostos bioativos, fibras, e outros nutrientes. Já os que receberam os compostos sintéticos isolados apresentaram uma redução de aproximadamente 20%. No pós-tratamento o reparo de dano se manteve semelhante ao pré-tratamento. Portanto os carotenóides utilizados neste estudo possuem um efeito protetor e modulatório sobre as células dos animais, podendo ser considerados possíveis agentes antigenotóxicos, desativando espécies reativas de oxigênio e captando radicais livres.

### Conclusão

Os sucos utilizados no estudo, assim como os carotenóides sintéticos não apresentaram ação genotóxica. Além disso, apresentaram ação protetora e de reparo no pré e pós-tratamento, respectivamente. Foi observado efeito benéfico mais acentuado nos grupos que receberam os sucos, mostrando que o sinergismo dos compostos presentes no alimento foi mais eficaz comparado aos compostos sintéticos isolados.

## Referências Bibliográficas

Azqueta,A.; Collins, A. R.; Carotenoids and DNA damage. mutation research, N 1; V.733(1-2), P. 4-13, 2012.

Collins, A.R.; Dobson, V.L.; DUSINSKÁ, M.; KENNEDY, G.; STĚTINA, R.; The comet assay: what can it really tell us?. MUTATION Research, v. 375, p. 183-93, 1997.

Tice,R. R.; Agurell,E.; Anderson,D.; Burlinson,B.; Hartmann,A.; Kobayashi,H.; Miyamae,Y.; Rojas,E.; Ryu,J. C.; Sasaki,Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing.environmental and molecular mutagenesis, North Carolina, V. 35, P. 206-221, 2000.

## INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE HIBISCUS ACETOSELLA WELM. EX HIERN SOBRE A GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE INDUZIDA POR AGENTES ALQUILANTES EM CAMUNDONGOS

DAJORI, A. L. F., MANENTI, A. V., DAMAZIO, D. D. C., LEFFA, D. D., ANDRADE, V. M.

luizadajori@hotmail.com, alinemanenti@hotmail.com, daianedcd@hotmail.com, daniela\_leffa@yahoo.com.br, vma@unesc.net

*Palavras-chave:* Extrato de Hibiscus acetosella; Getonoxicidade, Ensaio Cometa, Teste de Micronúcleos.

### Introdução

A atribuição de plantas como remédios caseiros é um hábito cultural e foco de estudos no mundo inteiro. Desta forma, a toxicidade de plantas empregadas na medicina popular deve ser cientificamente avaliada, visto que o consumo de plantas medicinais sem estudos de eficácia e segurança pode resultar em vários efeitos em diferentes órgãos. Um importante gênero da família Malvaceae é o Hibiscus, com mais de 200 espécies de plantas, tem sido investigado por ser fonte de compostos biologicamente ativos. O objetivo do presente estudo foi avaliar in vivo o possível efeito genotóxico e antígenotóxico do extrato de Hibiscus acetosella através dos danos causados pelos agentes Alquilantes Metil Metanosulfonato (MMS) e Ciclofosfamida (CP) através do ensaio cometa.

### Metodologia

Foram utilizados 72 camundongos albinos swiss machos adultos, obtidos do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram divididos em 12 grupos, com 6 camundongos por grupo. o experimento foi realizado durante 15 dias, através da administração diária de extrato de H.acetosella nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, e água destilada por meio de gavagem (volume de 0,1ml/10g de peso corporal). No 15º dia houve administração de solução salina e dos agentes alquilantes MMS e CP por via intraperitoneal. no 15º, 4 horas após o tratamento foram coletadas amostras de sangue periférico de todos os animais através de incisão na extremidade da cauda para a realização do ensaio cometa de acordo com Singh et al., (2000) e Collins et al., (1997) . no 16º dia os animais foram mortos por deslocamento cervical e extraídas amostras de tecido hepático para realização de ensaio cometa.

### Resultados e Discussão

Em relação à genotoxicidade do extrato em sangue periférico, para frequência de danos, tanto a dose intermediária (100 mg/kg) quanto a alta (200 mg/kg) mostraram valores significativamente maiores em relação a menor dose de 50 mg/kg. A dose de 200 mg/kg apresentou além de diferenças significativas para o Índice de Danos, também diferença para a FD quando comparada ao dano causado pelo agente MMS em sangue periférico, demonstrando-se genotóxica em relação ao controle negativo. Em tecido hepático, o extrato na dose de 200 mg/kg mostrou-se genotóxico independente do agente alquilante a que foi comparado pois apresentou valores significativamente mais altos que o controle negativo. Tal achado sugere toxicidade em nível de DNA do extrato na dose utilizada de 200mg/kg tanto em sangue periférico quanto em tecido hepático. Quando avaliada a antígenotoxicidade em sangue periférico e fígado as doses de 50 e 100 mg/kg de extrato foram capazes de proteger contra os danos causados pelo MMS.entretanto, tais resultados não foram mantidos em sangue periférico quando usado o agente alquilante CP e, o qual não teve seu efeito diminuído pela pré-ingestão de extratos em nenhuma das doses, não demonstrando ação protetora da planta. Tal evidência pode ser explicada pelo fato de a CP ser ativada por oxidases hepáticas de função mista, tendo genotoxicidade mediada por seus metabólitos, não gerando danos tão significativos em sangue periférico quanto em hepatócitos. Para as células de fígado o uso do agente alquilante CP, apresentou proteção hepática nas doses de 50 e 100 mg/kg, gerando redução de danos.

### Conclusão

O extrato utilizado parece desempenhar efeito genotóxico/antígenotóxico dose-dependente. Neste estudo foi observado efeito benéfico nos grupos que receberam o extrato nas doses moderada e baixa, mostrando efeito oposto na dose mais alta. Desta forma, sugere-se que o uso seguro da planta deve ser feito em doses baixas.

## Referências Bibliográficas

Tice, R. R.; Agurell, E.; Anderson, D.; Burlinson, B.; Hartmann, A.; Kobayashi, H.; Miyamae, Y.; Rojas, E.; Ryu, J. C.; Sasaki, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, North Carolina, v. 35, p. 206-221, 2000.

Ruban P, Gajalakshmi K. In vitro antibacterial activity of hibiscus rosa-sinensis flower extract against human pathogens. *Asian Pacific Trop Biomed.* v. 2, p. 399-403, 2012.

## INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE HIBISCUS ACETOSELLA WELM. EX HIERN SOBRE A GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE INDUZIDA POR AGENTES ALQUILANTES EM CAMUNDONGOS

DAJORI, A. L. F., MANENTI, A. V., DAMAZIO, D. D. C., LEFFA, D. D., ANDRADE, V. M.

luizadajori@hotmail.com, alinemanenti@hotmail.com, daianedcd@hotmail.com, daniela\_leffa@yahoo.com.br, vma@unesc.net

*Palavras-chave:* Extrato de Hibiscus acetosella; Getonoxicidade, Ensaio Cometa, Teste de Micronúcleos.

### Introdução

A atribuição de plantas como remédios caseiros é um hábito cultural e foco de estudos no mundo inteiro. Desta forma, a toxicidade de plantas empregadas na medicina popular deve ser cientificamente avaliada, visto que o consumo de plantas medicinais sem estudos de eficácia e segurança pode resultar em vários efeitos em diferentes órgãos. Um importante gênero da família Malvaceae é o Hibiscus, com mais de 200 espécies de plantas, tem sido investigado por ser fonte de compostos biologicamente ativos. O objetivo do presente estudo foi avaliar in vivo o possível efeito genotóxico e antígenotóxico do extrato de Hibiscus acetosella através dos danos causados pelos agentes Alquilantes Metil Metanosulfonato (MMS) e Ciclofosfamida (CP) através do ensaio cometa.

### Metodologia

Foram utilizados 72 camundongos albinos swiss machos adultos, obtidos do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram divididos em 12 grupos, com 6 camundongos por grupo. o experimento foi realizado durante 15 dias, através da administração diária de extrato de H.acetosella nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, e água destilada por meio de gavagem (volume de 0,1ml/10g de peso corporal). No 15º dia houve administração de solução salina e dos agentes alquilantes MMS e CP por via intraperitoneal. no 15º, 4 horas após o tratamento foram coletadas amostras de sangue periférico de todos os animais através de incisão na extremidade da cauda para a realização do ensaio cometa de acordo com Singh et al., (2000) e Collins et al., (1997) . no 16º dia os animais foram mortos por deslocamento cervical e extraídas amostras de tecido hepático para realização de ensaio cometa.

### Resultados e Discussão

Em relação à genotoxicidade do extrato em sangue periférico, para frequência de danos, tanto a dose intermediária (100 mg/kg) quanto a alta (200 mg/kg) mostraram valores significativamente maiores em relação a menor dose de 50 mg/kg. A dose de 200 mg/kg apresentou além de diferenças significativas para o Índice de Danos, também diferença para a FD quando comparada ao dano causado pelo agente MMS em sangue periférico, demonstrando-se genotóxica em relação ao controle negativo. Em tecido hepático, o extrato na dose de 200 mg/kg mostrou-se genotóxico independente do agente alquilante a que foi comparado pois apresentou valores significativamente mais altos que o controle negativo. Tal achado sugere toxicidade em nível de DNA do extrato na dose utilizada de 200mg/kg tanto em sangue periférico quanto em tecido hepático. Quando avaliada a antígenotoxicidade em sangue periférico e fígado as doses de 50 e 100 mg/kg de extrato foram capazes de proteger contra os danos causados pelo MMS.entretanto, tais resultados não foram mantidos em sangue periférico quando usado o agente alquilante CP e, o qual não teve seu efeito diminuído pela pré-ingestão de extratos em nenhuma das doses, não demonstrando ação protetora da planta. Tal evidência pode ser explicada pelo fato de a CP ser ativada por oxidases hepáticas de função mista, tendo genotoxicidade mediada por seus metabólitos, não gerando danos tão significativos em sangue periférico quanto em hepatócitos. Para as células de fígado o uso do agente alquilante CP, apresentou proteção hepática nas doses de 50 e 100 mg/kg, gerando redução de danos.

### Conclusão

O extrato utilizado parece desempenhar efeito genotóxico/antígenotóxico dose-dependente. Neste estudo foi observado efeito benéfico nos grupos que receberam o extrato nas doses moderada e baixa, mostrando efeito oposto na dose mais alta. Desta forma, sugere-se que o uso seguro da planta deve ser feito em doses baixas.

## Referências Bibliográficas

Tice, R. R.; Agurell, E.; Anderson, D.; Burlinson, B.; Hartmann, A.; Kobayashi, H.; Miyamae, Y.; Rojas, E.; Ryu, J. C.; Sasaki, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, North Carolina, v. 35, p. 206-221, 2000.

Ruban P, Gajalakshmi K. In vitro antibacterial activity of hibiscus rosa-sinensis flower extract against human pathogens. *Asian Pacific Trop Biomed.* v. 2, p. 399-403, 2012.

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DA COMBINAÇÃO DE XILAZINA E KETAMINA EM CAMUNDONGOS

TEIXEIRA, K. O., BRISTOT, B. N., DAMIANI, A. P., DAUMANN, F., ANDRADE, V. M.

*koteixeira@gmail.com, bnbristot@hotmail.com, drykadamiani@hotmail.com, fdaumann@hotmail.com, vma@unesnet*

*Palavras-chave: Ketamina; xilazina; mutagênese; Ensaio cometa; teste de micronúcleos*

### Introdução

Cerca de 234 milhões de pessoas no mundo se submetem a procedimentos cirúrgicos por ano, acompanhados por procedimentos anestésicos. A anestesia pode ser administrada de duas formas: regional ou geral. A geral é caracterizada por promover a perda de consciência, analgesia, relaxamento muscular e depressão de reflexos e pode ser administrada de duas maneiras principais, intravenosa e inalação. Um importante anestésico intravenoso é a ketamina, que é um antagonista do receptor NMDA não competitivo, metabolizado no fígado, e é usado para indução e manutenção de anestesia geral, principalmente em crianças. Devido aos seus efeitos catapléticos é normalmente associada com outras drogas como a xilazina, um relaxante muscular, que complementando os efeitos adversos do anestésico promove uma anestesia segura. A xilazina possui propriedades analgésicas, relaxantes musculares e tranquilizantes, atua como agonista dos receptores alfa-2-adrenérgicos no sistema nervoso central. É difícil encontrar na literatura estudos que avaliam a ketamina associada com a xilazina. Sendo que o objetivo geral do trabalho foi a avaliação do potencial genotóxico e mutagênico da combinação de xilazina e ketamina em camundongos.

### Metodologia

Os medicamentos utilizados foram: Ketamina e Xilazina. Foram utilizados 60 camundongos, machos, jovens. Divididos em dez grupos com 6 animais cada: 1 - Controle Negativo (NaCl 0,9%); 2 - Controle Positivo (Doxorrubicina); 3 - ketamina 80mg/kg e 10mg/kg de xilazina; 4 - ketamina 100mg/kg e 10mg/kg de xilazina; 5 - ketamina 140mg/kg e 8mg/kg de xilazina; 6 - ketamina 80mg/kg; 7 - ketamina 100mg/kg; 8 - ketamina 140mg/kg; 9 - xilazina 8mg/kg e 10 - xilazina 10mg/kg, administrados intraperitonealmente. Após 1h, 12h e 24h foram coletados sangue periférico através de incisão na veia caudal para o ensaio cometa. Após a última coleta os animais foram mortos por decapitação e foram retirados o fígado,

rins e córtex cerebral para o ensaio cometa e a medula óssea para o teste de micronúcleos. O ensaio cometa foi realizado segundo Tice et al. (2000) e o teste de micronúcleos realizado segundo Mavournin et al. (1990).

### Resultados e Discussão

Em 1 hora todos os grupos apresentaram diferença significativa em relação ao controle negativo com  $p < 0,01$  em ambos os parâmetros, exceto os grupos 9 e 10. Após 12 horas os grupos que receberam ketamina (80, 100 e 140mg/kg, isolada e combinada com xilazina) apresentaram diferenças significativas em ambos os parâmetros do ensaio cometa (índice e frequência de danos) com  $p < 0,05$  e o grupo ketamina 140mg/kg com  $p < 0,01$ . Depois de 24 horas apenas os grupos tratados com 140mg/kg de ketamina e o controle positivo apresentaram diferenças significativas na frequência de danos com  $p < 0,05$  e índice de danos com  $p < 0,01$  em relação ao controle negativo, demonstrando que quando todo o fármaco é depurado os danos no DNA não são totalmente reparados nas doses mais elevadas e que a eficiência do sistema de reparo é dose dependente. Das estruturas analisadas apenas o córtex do grupo tratado com a dose mais elevada de ketamina (isolada ou combinada com xilazina) e o grupo controle positivo apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle negativo com  $p < 0,01$  em ambos os parâmetros, demonstrando que a ketamina é a única responsável pelos danos apresentados já que isoladamente a xilazina não demonstrou genotoxicidade. No teste de micronúcleos nenhuma das doses avaliadas isoladas ou em conjunto apresentaram mutagenicidade.

### Conclusão

Conclui-se que a maior dose de ketamina é capaz de causar genotoxicidade em camundongos. E por isso mais estudos são necessários para confirmação destes resultados.

### Referências Bibliográficas

R.R Tice, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing, Environ. Mol. Mutagen. 35 (2000) 206-21

K.H. Mavournin, et al. The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program, Mutat. Res. 239 (1990) 29-80.

### **Fonte Financiadora**

CNPq

## POTÊNCIAL GENOTÓXICO DE FOLHAS DE BRASSICA OLERACEA VAR. ACEPHALA D.C CULTIVADAS EM ÁREAS DE EXPLORAÇÃO DE CARVÃO

PEREIRA, M., ANDRADE, V. M., MARTINS, M. C., TEIXEIRA, K. O., JESUS, M. M.

maiarapereira\_@hotmail.com, vma@unesc.net, mcm@unesc.net, n1na3@hotmail.com, maiellenmj@hotmail.com

Palavras-chave: Potencial, genotóxico.

### Introdução

A exploração de carvão causa alterações físicas, químicas e biológicas nos ecossistemas locais, gerando quantidades significativas de rejeitos potencialmente poluidores que a pouco tempo atrás eram oferecidos a população como aterro. Com o passar do tempo iniciou-se o plantio de hortaliças sobre esses aterros e o consumo das mesmas, no entanto, estas hortaliças podem apresentar um risco genotóxico potencial aos organismos consumidores. Acredita-se que o consumo de hortaliças cultivadas nessas áreas, como a Brassica oleracea var.acephala conhecida popularmente como couve-folha, representam riscos à saúde humana.

### Metodologia

Foi administrado água, suco das folhas de couve de mina obtidas de um cultivo sob um antigo depósito de rejeito de carvão e o suco das folhas de couve orgânica. O suco foi produzido em uma centrífuga de alimentos sem adição de água. Foram utilizados 36 camundongos swiss machos adultos, divididos em dois tratamentos distintos e subdivididos em 6 grupos respectivamente. No tratamento agudo os animais foram divididos em 3 grupos: Controle Negativo – água (CN), Suco de Couve Orgânica (SCO) e Suco de Couve da Mina (SCM), estes receberam uma única administração de água ou dos sucos. Para a realização do Ensaio cometa de acordo com Ticeet al., (2000) e Collins et al., (1997), foram realizadas coletas de sangue periférico em 3, 6 e 24h. Após a última coleta os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, para a retirada do fígado e córtex, também para a realização do EC. No tratamento crônico, os animais foram divididos nos mesmos grupos do tratamento agudo, sendo realizada uma administração contínua de água ou dos sucos por 30 dias com coletas de sangue em 1, 2, 5, 10, 20 e 30 dias, no 30º dia os animais foram eutanasiados para a retirada do fígado e córtex. Tanto o sangue quanto as estruturas foram utilizados na realização do EC.

No EC agudo o grupo SCM apresentou diferença significativa em relação ao Grupo CN e SCO com  $P < 0,01$  (Anova, Tukey) em todos os tempos e estruturas em ambos os parâmetros do EC (Índice de Danos (ID) e Frequência de Danos (FD)), exceto o fígado que não diferiu na FD do Grupo SCO. No EC crônico o Grupo SCM diferiu dos tratamentos CN e SCO com  $P < 0,01$  (Anova, Tukey) em todos os tempos em ambos os parâmetros do EC exceto o 30º dia que obteve  $P < 0,05$  (Anova, Tukey). as estruturas não apresentaram diferenças significativas. pudemos observar que o suco de couve cultivada sobre depósitos controlados de rejeitos da exploração de carvão, mesmo com todo o preparo da terra, é genotóxico tanto de forma aguda quanto crônica. mostramos que os animais que foram tratados com suco da couve-folha provinda da mina obtiveram danos significativamente maiores comparados com os animais tratados com suco de couve-folha orgânica e o controle negativo (água). Segundo Clemens (2006) a absorção e o acúmulo de metais tóxicos em espécies vegetais representam a principal via de entrada potencialmente ameaçadora à saúde humana e animal a partir da alimentação, ressaltando ainda, que as plantas possuem uma tolerância a níveis Elevados de metais o que pode ser mais prejudicial para os consumidores.

### Conclusão

O consumo de Brassicaoleracea l. var. acephala D.C. cultivada em área de exploração de carvão deverá ser realizado com extrema cautela, sendo que estas apresentaram alto potencial genotóxico, principalmente em células sanguíneas. No entanto, mais estudos são necessários para confirmação destes resultados.

### Referências Bibliográficas

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *biochimie*, V. 88, P. 1707-1719, 2006.

### Resultados e Discussão

COLLINS, A.R.; DOBSON, V.L.; DUSINSKÁ, M.; KENNEDY, G.; STĚTINA, R.; the comet assay: what can it really tell us?. *Mutation Research*, v. 375, p. 183-93, 1997.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J. C.; SASAKI, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *environmental and molecular mutagenesis*, North Carolina, v. 35, p. 206-221, 2000.

### **Fonte Financiadora**

Pró-stricto UNESC.

## AVALIAÇÃO DO POSSÍVEL POTENCIAL GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA CAFETERIA

DAUMANN, F., LEFFA, D. D., LONGARETTI, L. M., DAJORI, A. L. F., ANDRADE, V. M.

fdaumann@hotmail.com, daniela\_leffa@yahoo.com.br, luhmartins@hotmail.com, luizadajori@hotmail.com, vma@unesc.net

*Palavras-chave:* Dieta cafeteria, obesidade, genotoxicidade, antimutagenicidade

### Introdução

O sobrepeso e a obesidade são consequências da interação entre fatores genéticos, metabólicos, comportamentais e ambientais. Além disso, o elevado consumo calórico associado à diminuição no gasto energético leva a um balanço energético positivo e um aumento acentuado de peso. A obesidade está associada à produção de radicais livres, inflamação crônica, hiperglicemia, níveis elevados de lipídeos, danos teciduais e diminuição na capacidade antioxidante. Estudos demonstram que a superprodução crônica de espécies reativas de oxigênio existentes na obesidade podem induzir alterações mutagênicas, podendo danificar as proteínas de reparo do DNA contribuindo para o desenvolvimento do câncer. O objetivo deste estudo foi avaliar o possível potencial genotóxico e mutagênico em camundongos submetidos a uma dieta hipercalórica e hiperlipídica, também conhecida como dieta cafeteria.

### Metodologia

Foram utilizados 12 camundongos Swiss machos albinos, divididos em 2 grupos, dieta padrão (DP, n = 6) e dieta cafeteria (CAF, n = 6), após 13 semanas desses respectivos tratamentos, os animais sofreram eutanásia, seguido da retirada das estruturas, medula óssea; rim, fígado, cérebro e sangue, para posterior análise através do Teste de Micronúcleos e Teste Cometa, respectivamente.

### Resultados e Discussão

Os resultados do teste de micronúcleos apontaram que os animais tratados com dieta cafeteria (CAF) mostraram um aumento na frequência de MnEPC em células da medula óssea quando comparados com o grupo controle, confirmando que a dieta cafeteria foi mutagênica. Além disso, não foi observada redução significativa no número médio de EPC no total de eritrócitos, em comparação com o grupo controle e o grupo CAF, o que demonstra ausência de citotoxicidade dos diferentes

tratamentos sob as condições testadas. O teste cometa também constatou genotoxicidade da dieta cafeteria, assim, os animais tratados com a mesma apresentaram dano ao material genético superior aos animais que receberam dieta padrão. A genotoxicidade desta dieta foi verificada nos diferentes tecidos analisados, tanto pra índice de danos quanto para frequência de danos. Diversos estudos comprovam que a dieta cafeteria é usada como modelo de dieta experimental, induzindo obesidade, sendo que o termo dieta cafeteria foi originalmente usado para designar uma variedade de alimentos que estão inclusos na alimentação ocidental.

### Conclusão

Este trabalho demonstrou o efeito genotóxico e mutagênico da dieta cafeteria nos animais alimentados com a mesma, sugerindo-se que uma alimentação saudável é de extrema importância, por participar na prevenção de diversas patologias, entre elas o câncer.

### Referências Bibliográficas

- HUSSAIN, S. P.; HOFSETH, L. J.; HARRIS, C. C. Radical causes of cancer. *Nature Reviews Cancer*, Maryland, v. 3, n. 4, p. 3: 276–285, 2003.
- LOUALA, S.; BENYAHIA-MOSTEFAOUI, A.; LAMRI-SENHADJI, M. Y. Energy restriction reduces oxidative stress in the aorta and heart and corrects the atherogenic riskin obese rat. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, Oran, no prelo DOI: 10.1016/j.ancard.2013.04.005, 2013.
- NGUYEN, D. M.; EL-SERAG, H. B. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology Clinics of North America*, Maryland, v. 39, n. 1, p. 1-7, 2010.
- SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*, Sheffield, v. 52, n.1, p. 34–38, 2009.

**Fonte Financiadora**

UNESC e CNPQ.