



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DE HIPOLIPOMIANTES ATRAVÉS DO TESTE SMART EM *Drosophila melanogaster*

Samara P. Candido^{1,2}; Fernanda C. D. Magalhães¹; Mariana A. Flores¹; Rafael R. Dohl¹ e Mauricio Lehmann^{1,3}

¹Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde), ULBRA Canoas;

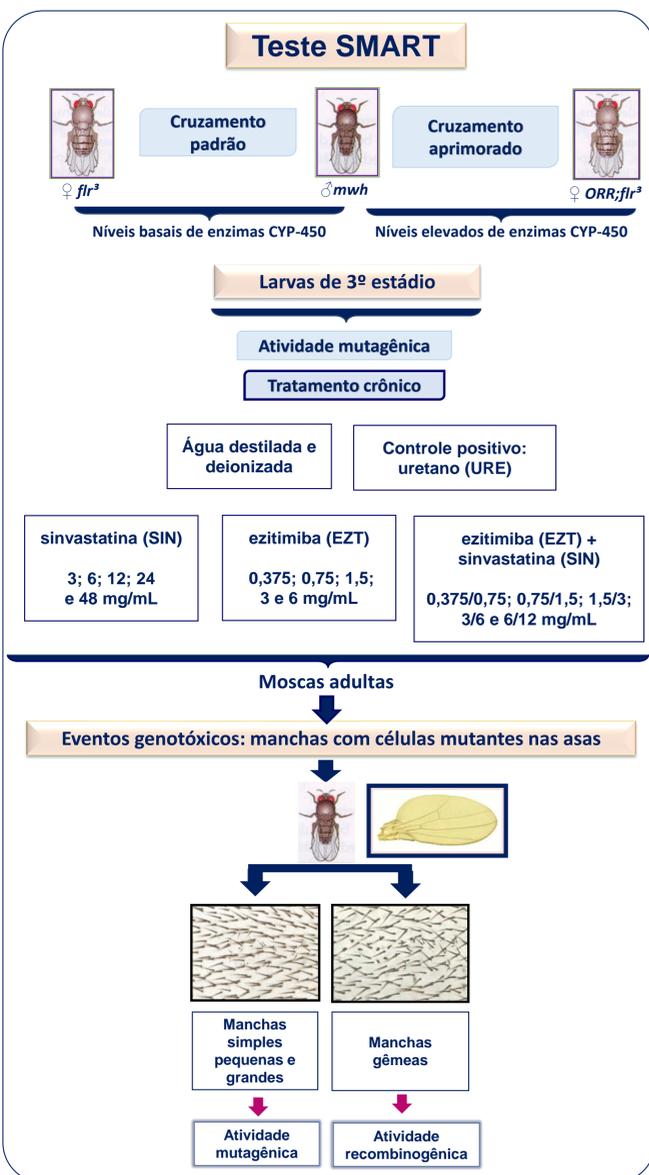
²Bolsista de IC PROICT/ULBRA, aluna do Curso de Farmácia, ULBRA Canoas; ³Orientador IC. E-mail: mauriciol@ulbra.br

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs) têm sido a principal causa das morbimortalidades em todo o mundo (Chong et al., 2019). Os ensaios clínicos e terapêuticos evidenciaram o benefício do tratamento das hipercolesterolemias mostrando eficácia na prevenção e intervenção das DCVs (Arefieva et al., 2020). Entretanto, apesar de bem tolerados, os fármacos hipolipomiantes apresentam efeitos adversos indesejáveis, seja nos usos isolados ou associados à interação medicamentosa. Os fármacos prescritos para o tratamento das dislipidemias são essenciais para controlar os elevados níveis de colesterol no sangue. Entretanto, apresentam muitos efeitos colaterais, entre os quais a atividade genotóxica que está associada a gênese de diversos tipos de doenças, entre elas o câncer (Katsiki et al., 2020). Embora existam alguns estudos que apontem para os efeitos mutagênicos de alguns fármacos deste grupo (Coetsee et al., 2008; Gajski e Garaj-Vrhovac, 2008; Berber et al., 2014), pouco se sabe sobre a capacidade de indução de danos genéticos, especialmente a recombinação somática.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade mutagênica dos hipolipomiantes sinvastatina (SIN), ezitimiba (EZT), e da combinação de ezitimiba/sinvastatina (EZT/SIN), através do teste para detecção de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*.

METODOLOGIA



RESULTADOS

Tabela 1 - Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/fli3* do cruzamento padrão após exposição crônica de larvas de 3º estágio ao EZT, SIN e à combinação EZT/SIN e seus respectivos controles negativo e positivo.

Tratamentos ^a	Nº de moscas (N)	Manchas por indivíduo (nº de manchas) diagnóstico estatístico ^b			
		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^c m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^c m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas m = 2
Controle negativo	40	0,55 (22)	0,13 (05)	0,05 (02)	0,73(29)
URE 20mM	20	3,05 (61) +	0,55 (11) +	0,15 (03) i	3,75(75) +
Ezetimiba (mg/mL)					
EZT 0,375	40	1,05 (42) +	0,18 (07) i	0,00 (00) i	1,23(49) +
EZT 0,75	40	1,30 (52) +	0,08 (03) i	0,00 (00) i	1,38(55) +
EZT 1,5	40	1,55 (62) +	0,20 (08) i	0,00 (00) i	1,75(70) +
EZT 3	40	1,73 (69) +	0,28 (11) i	0,03 (01) i	2,03(81) +
EZT 6	40	1,60 (64) +	0,15 (06) i	0,00 (00) i	1,75(70) +
Sinvastatina (mg/mL)					
SIN 3	40	1,45 (58) +	0,18 (07) i	0,00 (00) -	1,63(65) +
SIN 6	40	1,53 (61) +	0,40 (16) +	0,03 (01) i	1,95(78) +
SIN 12	40	1,18 (47) +	0,15 (06) i	0,03 (01) i	1,35(54) +
SIN 24	40	1,08 (43) +	0,13 (05) i	0,03 (01) i	1,23(49) +
SIN 48	40	1,20 (48) +	0,18 (07) i	0,03 (01) i	1,40(56) +
Ezetimiba/sinvastatina (mg/mL)					
EZT 0,375 / SIN 0,75	40	0,80 (32) +	0,15 (06) i	0,00 (00) -	0,95(38) i
EZT 0,75 / SIN 1,5	40	1,48 (59) +	0,18 (07) i	0,10 (04) i	1,75(70) +
EZT 1,5 / SIN 3	40	1,08 (43) +	0,20 (08) i	0,00 (00) -	1,28(51) +
EZT 3 / SIN 6	40	1,30 (52) +	0,08 (03) -	0,00 (00) -	1,38(55) +
EZT 6 / SIN 12	40	1,20 (48) +	0,25 (10) i	0,03 (01) i	1,48(59) +

^aControle negativo: água destilada e deionizada; Controle positivo, uretano (URE) 20 mM. ^bDiagnóstico estatístico: -, negativo; +, positivo; i, inconclusivo, quando comparado ao CN através do teste binomial condicional; m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^cInclui manchas simples *fli3* raras.

Tabela 2 - Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/fli3* do cruzamento aprimorado após exposição crônica de larvas de 3º estágio ao EZT, SIN e à combinação EZT/SIN e seus respectivos controles negativo e positivo.

Tratamentos ^a	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (nº de manchas) diagnóstico estatístico ^b			
		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^c m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^c m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas m = 2
Controle negativo	40	0,73(29)	0,10(04)	0,00(00)	0,83(33)
URE 20mM	20	22,35(447) +	10,60(212) +	3,80(76) +	36,75(735) +
Ezetimiba (mg/mL)					
EZT 0,375	40	1,25(50) +	0,25(10) i	0,00(00) i	1,50(60) +
EZT 0,75	40	0,88(35) -	0,20(08) i	0,05(02) i	1,13(45) i
EZT 1,5	40	1,20(48) +	0,13(05) i	0,00(00) i	1,33(53) +
EZT 3	40	1,08(43) i	0,13(05) i	0,00(00) i	1,20(48) i
EZT 6	40	0,65(26) -	0,13(05) i	0,00(00) i	0,78(31) -
Sinvastatina (mg/mL)					
SIN 3	40	1,53(61) +	0,28(11) i	0,03(01) i	1,83(73) +
SIN 6	40	1,30(52) i	0,28(11) i	0,03(01) i	1,60(64) -
SIN 12	40	1,08(43) -	0,30(12) i	0,00(00) i	1,38(55) -
SIN 24	40	1,15(46) -	0,35(14) i	0,03(01) i	1,53(61) -
SIN 48	40	1,53(61) +	0,10(04) -	0,03(01) i	1,65(66) f+
Ezetimiba/sinvastatina (mg/mL)					
EZT 0,375 / SIN 0,75	40	0,53(21) -	0,28(11) i	0,05(02) i	0,85(34) -
EZT 0,75 / SIN 1,5	40	0,83(33) +	0,23(09) i	0,05(02) i	1,10(44) i
EZT 1,5 / SIN 3	40	0,90(36) +	0,10(04) -	0,08(03) i	1,08(43) i
EZT 3 / SIN 6	40	1,38(55) +	0,25(10) i	0,23(09) +	1,85(74) +
EZT 6 / SIN 12	40	1,30(52) +	0,20(08) i	0,05(02) i	1,55(62) +

^aControle negativo: água destilada e deionizada; Controle positivo, uretano (URE) 20 mM. ^bDiagnóstico estatístico: -, negativo; +, positivo; i, inconclusivo; f+, fraco positivo, quando comparado ao CN através do teste binomial condicional; m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^cInclui manchas simples *fli3* raras.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

- No cruzamento padrão a EZT e a SIN apresentaram atividade genotóxica em todas as concentrações utilizadas, porém sem relação dose-efeito (Tabela 1).
- A combinação destes compostos também induziu danos no DNA em todas as concentrações avaliadas no cruzamento padrão com exceção da combinação EZT 0,375/SIN 0,75 mg/mL (Tabela 1).
- No cruzamento aprimorado, os resultados mostram que a EZT apresentou toxicidade genética nas concentrações de 0,375 e 1,5 mg/mL, enquanto a SIN mostrou potencial genotóxico na concentração mais baixa (3 mg/mL) e na concentração mais alta (48 mg/mL), porém nesta última com aumento fraco-positivo em relação ao controle negativo (Tabela 2).
- Na combinação destes compostos, utilizando o cruzamento aprimorado, foram observados resultados positivos nas concentrações de 3/6 mg/mL e 6/12 mg/mL (Tabela 2).
- Os achados do presente estudo estão de acordo com alguns estudos prévios que também classificaram a SIN como agente genotóxico (Coetsee et al., 2008; Rodrigues et al., 2019). Entretanto, este é o primeiro estudo que mostra a atividade mutagênica da EZT e de sua combinação com a SIN.
- Estes resultados mostram uma possível interferência das enzimas de metabolização sobre a atividade mutagênica destes fármacos, visto que houve menor número de concentrações com resultados positivos no cruzamento aprimorado.
- Além disso, estes resultados alertam para os riscos associados ao uso destes compostos, visto terem apresentado efeitos mutagênicos no teste SMART e reforçam a necessidade de estudos adicionais para ampliar a investigação do potencial genotóxico dos hipolipomiantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arefieva TI, Filatova AY, Potekhina AV, Shchinova AM. Immunotropic Effects and Proposed Mechanism of Action for 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A Reductase Inhibitors (Statins). *Biochemistry (Mosc)*. 2018;83(8):874-889.
- Berber AA, Celik M, Aksoy H. Genotoxicity evaluation of HMG CoA reductase inhibitor rosuvastatin. *Drug Chem Toxicol*. 2014;37:316-21
- Chong SY, Lee CK, Huang C, Ou YH, Charles CJ, Richards AM, Neupane YR, Pavon MV, Zharkova O, Pastorin G, Wang JW. Extracellular vesicles in cardiovascular diseases: alternative biomarker sources, therapeutic agents, and drug delivery carriers. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13):3272.
- Coetsee TN, Pretorius PJ, Terre'blanche G, Bergh JJ. Investigating the potential neuroprotective effects of statins on DNA damage in mouse striatum. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(9):3186-92.
- Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Application of cytogenetic endpoints and comet assay on human lymphocytes treated with atorvastatin in vitro. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2008;43(1):78-85.
- Katsiki N, Mikhailidis DP, Bajraktari G, et al. Statin therapy in athletes and patients performing regular intense exercise - Position paper from the International Lipid Expert Panel (ILEP). *Pharmacol Res*. 2020;155:104719.
- Rodrigues G, Moreira AJ, Bona S, Schemitt E, Marroni CA, Di Naso FC, Dias AS, Pires TR, Picada JN, Marroni NP. Simvastatin Reduces Hepatic Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress in Nonalcoholic Steatohepatitis Experimental Model. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:3201873.