

CASTILHOS B<sup>1</sup>, SPEROTTO ARM<sup>1,2</sup>, MOURA DJ<sup>1,2</sup>, HENRIQUES JAP<sup>1</sup>, STÁBELI RG<sup>3,4</sup>, CALDERON LA<sup>3</sup>, SAFFI J<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biofísica - Centro de Biotecnologia, UFRGS; <sup>2</sup>Departamento de Ciências Básicas da Saúde, UFCSPA;

<sup>3</sup>Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas a Medicina – Universidade Federal de Rondônia – UNIR; <sup>4</sup>Fiocruz Noroeste.

## INTRODUÇÃO

A espécie *Rhinella marina*, conhecida popularmente como sapo cururu, pertence à família Bufonidae. Esses anfíbios possuem ampla distribuição, sendo encontrados nos Estados Unidos, México e América do Sul. Sapos da espécie *Rhinella marina* apresentam um tipo de glândula responsável pela síntese de uma grande diversidade de compostos químicos, os quais conferem proteção contra infecções por bactérias e fungos, bem como contra predadores. De acordo com a estrutura química os tipos moleculares, encontrados na pele de anfíbios, podem ser divididos em quatro categorias: aminas biogênicas, esteróides (bufogeninas e bufotoxinas), alcalóides e peptídeos (Maciel, 2008).

## OBJETIVO

Considerando que o produto de síntese do anfíbio *Rhinella marina* (veneno) tem uma composição química diversificada e é utilizado como defesa através de uma ação tóxica, este projeto tem como objetivo avaliar o efeito citotóxico, mutagênico e genotóxico do veneno, utilizando a linhagem de fibroblastos de pulmão de hamster chinês (células V79) e a linhagem haplóide da levedura *Saccharomyces cerevisiae* XV 185-14C.



**Tabela 1.** O veneno não diminuiu a sobrevivência ou induziu mutações pontuais (*his1-7* e *lys1-1*) e mutação *frameshift* (*hom3-10*) na linhagem haplóide XV 185-14C de *S. cerevisiae* após o tratamento por 18 horas com células em fase exponencial.

Substância	Tratamento	Sobrevivência (%)	<i>LYS1</i> /10 <sup>7</sup> sobreviventes <sup>b</sup>	<i>HIS1</i> /10 <sup>7</sup> sobreviventes <sup>a</sup>	<i>HOM3</i> /10 <sup>7</sup> sobreviventes <sup>a</sup>
CN <sup>d</sup>	0	100,00	0,87 0,69 <sup>c</sup>	0,62 0,35 <sup>c</sup>	0,11 0,08 <sup>c</sup>
4-NQO <sup>e</sup>	0.5 µg/mL	15,33***	125,92 9,19***	151,88 6,3 ***	41,22 8,50***
Veneno de <i>Rhinella marina</i>	10 µg/mL	97,04	0,45 0,32	0,627 0,36	0,08 0,02
	20µg/mL	92,12	0,72 0,86	0,58 0,43	0,14 0,14
	40µg/mL	88,81	0,93 0,69	0,56 0,32	0,11 0,10
	80µg/mL	85,24	1,54 0,84	0,56 0,50	0,18 0,07
	160 µg/mL	81,60	2,06 0,94	0,50 0,44	0,09 0,11
	320 µg/mL	74,96	2,06 0,61	0,82 0,35	0,02 0,03

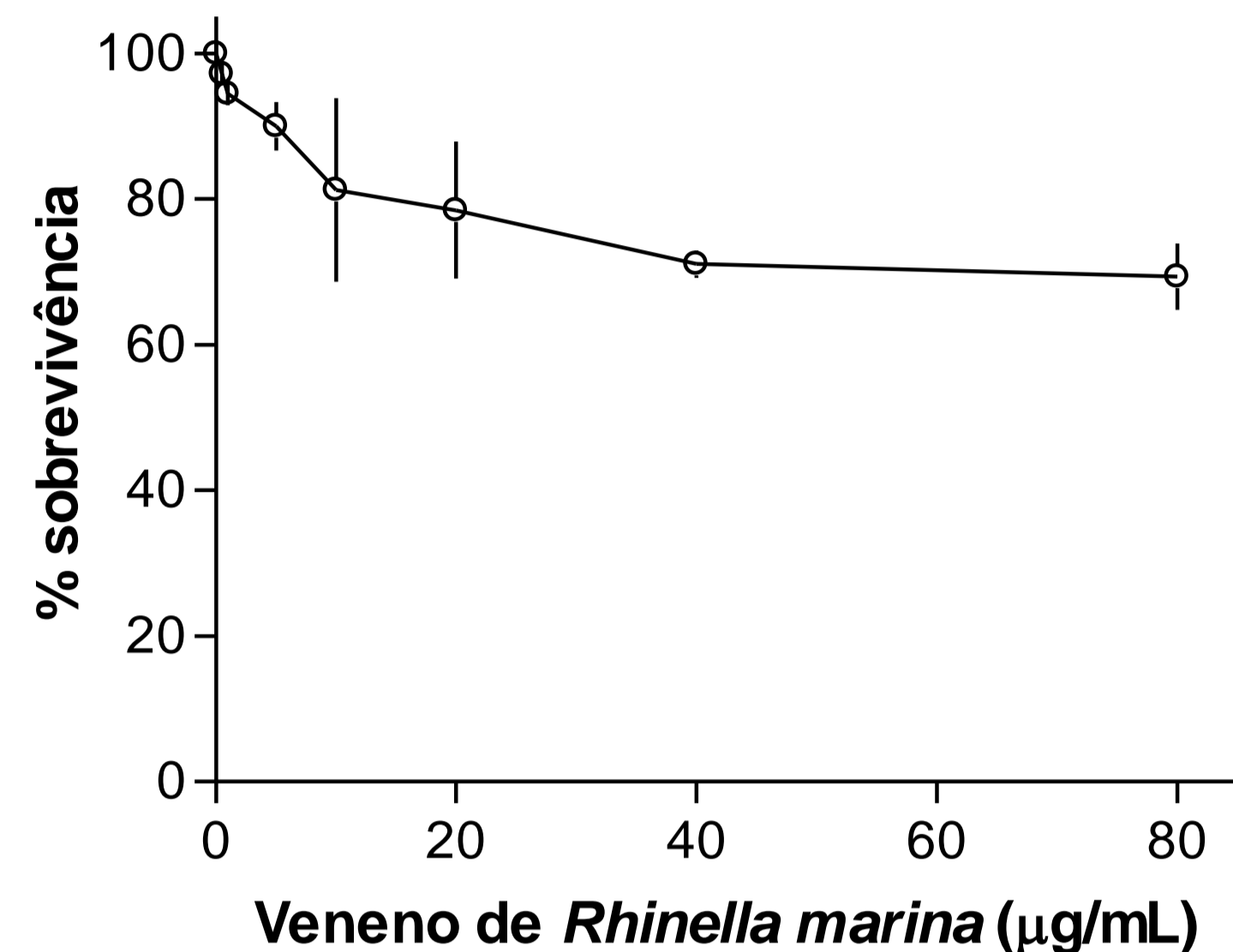
<sup>a</sup> Revertentes locus específico; <sup>b</sup> Revertentes locus não-específico (*forward mutation*); <sup>c</sup> Média e desvio padrão de três experimentos independentes; <sup>d</sup> Controle negativo (solvente); <sup>e</sup> Controle positivo; \* Dados significativos em relação ao controle negativo quando  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ / Análise de Variância Simples e pós teste de Dunnet.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que o veneno de *Rhinella marina* não foi citotóxico nas concentrações testadas em células V79 e na linhagem XV 185-14C. O veneno foi capaz de induzir quebras no DNA a partir das concentrações de 40 e 80 µg/mL em células V79, porém não teve efeito mutagênico nas doses testadas. Concluímos que o veneno é capaz de causar lesões no DNA que podem ser reparadas pelas células, não causando mutagênese. Porém, mais ensaios devem ser realizados para confirmar essa hipótese.

## RESULTADOS

**Figura. 1.** O ensaio de MTT mostra que o veneno de *Rhinella marina* não diminuiu a viabilidade celular da linhagem V79 após tratamento de 24 horas nas doses testadas.



**Figura. 2.** Resultados do ensaio cometa alcalino demonstram aumento significativo das quebras no DNA após tratamento das células V79.

(\* dados significativos em relação ao controle negativo quando  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$  / Análise de Variância Simples e pós teste de Dunnet).

