

# Avaliação da atividade genotóxica da finasterida, por meio do teste da mutação e recombinação somática, em asas de *Drosophila melanogaster*.

Antônio Joaquim de S. Castro\*

Júlio César Nepomuceno\*\*

**RESUMO:** A finasterida é uma droga sintética que vem sendo utilizada na prevenção e no tratamento de câncer de próstata, e também por pessoas com predisposição genética para calvície. Sua ação está associada à inibição da 5 alfa redutase, enzima que converte testosterona em diidrotestosterona. A diidrotestosterona é um andrógeno responsável pelo crescimento da próstata, quando encontrada nessa glândula, e pela queda de cabelo, quando nos folículos pilosos. Em função do uso da finasterida pela medicina, utilizou-se o teste da mancha da asa em *Drosophila melanogaster* (Somatic Mutation And Recombination Test – SMART) para avaliar o possível efeito genotóxico e/ou antigenotóxico da finasterida. Para tanto, foram utilizadas larvas de 72 horas, resultantes dos cruzamentos padrão e de alta bioativação metabólica. Os resultados obtidos demonstraram que não houve aumento, estatisticamente significativo, das frequências de manchas, quando se compara o controle negativo com a finasterida. Quando a finasterida foi associada à doxorrubicina (DXR) (0,125mg/mL), observamos uma redução de manchas mutantes, estatisticamente significativa, quando comparada com as manchas induzidas pela doxorrubicina. Os resultados nos permitem concluir que, nestas condições experimentais, a finasterida não é genotóxica e exerce efeito protetor contra a ação genotóxica da DXR.

**PALAVRAS CHAVE:** Finasterida, *Drosophila melanogaster*, SMART, Uretano.

**ABSTRACT:** Finasteride is a synthetic drug that has been used in the prevention and treatment of prostate cancer, and also by people who have genetic predisposition to baldness. Its action is associated to the inhibition of 5-alpha reductase, enzyme that converts testosterone in dihydrotestosterone. Dihydrotestosterone is an androgynous responsible for the prostate growth, when it can be found in the gland, and also for the hair fall, when it can be found in the hair follicles. Considering the use of finasteride by medicine, we used the wings spot test, in *Drosophila melanogaster* (Somatic Mutation And Recombination Test – SMART) to evaluate the genotoxic and antigenotoxic effect of finasteride. For that, we used 72-hour larvae, resulting from standard and high metabolic bioactivation crosses. The results obtained demonstrated that there was no statistically significant increase of the spots frequency, when we compare the negative control with finasteride. When finasteride was associated to doxorubicin (DXR) (0,125mg/mL), we observed a statistically significant reduction in mutant spots, when compared to spots induced by doxorubicin. The results lead us to conclude that, in these experimental conditions, finasteride is not genotoxic and exercises protector effect against genotoxic action of DXR.

**KEY WORDS:** Finasteride, *Drosophila melanogaster*, SMART, Urethane.

---

\* Estudante de graduação do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Patos de Minas e bolsista do III PIBIC.

\*\* Professor Titular do Centro Universitário de Patos de Minas e Professor Adjunto da Universidade Federal de Uberlândia.

## 1. INTRODUÇÃO

A finasterida é um medicamento da classe dos azasteroides, que tem atividade antiandrogênica ligada a certos tecidos como a próstata (STEINER 1996). Esse medicamento é utilizado tanto na prevenção de câncer de próstata, como no tratamento desse câncer, quando ainda benigno (hiperplasia prostática benigna). Ela é também utilizada em pessoas predispostas geneticamente para calvície. Neste caso, o tratamento com finasterida retarda a queda de cabelo (HUSKEY et al., 1995).

A finasterida inibe a enzima 5 alfa redutase, que converte a testosterona na diidrotestosterona, que tem maior afinidade pelos receptores androgênicos. Esse medicamento por si só não se liga a receptores androgênicos, não apresenta qualquer ação hormonal e nem inibe a formação de outros esteróides (Rang. et al., 1997).

Essa droga é usada por via oral e diariamente. Sua metabolização é feita nos microsossomos hepáticos por hidroxilação do grupo T-butil seguida por oxidação casual do ácido correspondente (ácido omega-oico finasterida) com o omega-aldeido finasterida. Destes estudos foram identificadas enzimas específicas para o metabolismo da finasterida que é o citocromo P-450. Para identificação dessas enzimas foram usados inibidores do citocromo P-450 e microsossomos contendo enzimas específicas recombinantes do citocromo P-450 humano (HUSKEY et al., 1995).

A próstata necessita de estimulação de andrógenos para seu desenvolvimento e crescimento. A testosterona é um dos andrógenos estimulantes responsáveis pelo crescimento da próstata, quando convertida para diidrotestosterona pela enzima 5 alfa redutase, nas células basais dessa glândula. A diidrotestosterona é responsável pelo desenvolvimento prostático e pela hiperplasia benigna prostática (STEERS, 2001).

Em homens com câncer benigno de próstata, a finasterida tem tido sucesso no decréscimo dos sintomas como, por exemplo, diminuição do tamanho da próstata em até 20%; aumento da taxa do fluxo urinário cerca de 3mL (STEINER., 1996).

No homem com hiperplasia benigna de próstata, a finasterida provoca uma redução significativa no tamanho dessa glândula. E, em um terço dos homens tratados com a finasterida, ocorre uma melhora do fluxo urinário e das manifestações clínicas. Portanto, proporciona uma alternativa à cirurgia em homens com manifestações moderadas da doença (HARDAMAN., et al., 2001).

Resultados de experimentos mostraram que a terapia da finasterida, em conjunto com a terazoina, é significativamente mais eficiente em relação às melhorias dos sintomas ligados ao câncer benigno de próstata, do que à monoterapia com finasterida (WIDE & GOA, 1999).

No uso de 5 mg de finasterida, podem-se apresentar como efeitos adversos: perda da libido, desordem e diminuição do volume ejaculatório em cerca de 25% e redução dos antígenos específicos da próstata em aproximadamente 50%. Quando interrompido o tratamento com finasterida, todos os efeitos adversos são reversíveis (OVERSTREET et al., 1999).

Estudos comprovam que no tratamento de 1 mg da droga, por dia, não afeta a espermatogênese e nem diminui o volume ejaculatório em homens jovens. O efeito de 1 mg diariamente no volume ejaculatório e libido são mínimos e reversíveis quando interrompido o tratamento (OVERSTREET et al; 1999).

#### 1.1. Teste para detecção de mutação e recombinação somática em células de asas de *Drosophila melanogaster*

É o sistema teste descrito por GRAF et al. (1984) que é utilizado para detecção de atividades mutagênicas e recombinogênicas ou deleção ocorridas no cromossomo 3 de *Drosophila melanogaster*.

O SMART, de acordo com GRAF et al. (1984), foi desenvolvido para detectar a perda de heterozigose de genes que determinam a expressão de fenótipos detectáveis nas asas das moscas (GUZMÁN - RINCÓN & GRAF, 1995).

No SMART, são utilizados genes *mwh* (multiple wing hairs) e *flr<sup>3</sup>* (flare - 3), com expressões fenotípicas bem definidas. O marcador multiple wing hairs é mantido na linhagem como uma mutação viável em homozigose recessiva. A mutação *mwh* está localizada no cromossomo 3 (3-0,3) e em condições de homozigose produz múltiplos tricomas por célula ao invés de apenas um único tricoma, como normalmente acontece. O marcador flare - 3 (*flr<sup>3</sup>*) é uma mutação recessiva que, afeta a forma do pelo da asa, ele também está localizado no cromossomo 3, mas em posição mais proximal (3-38,3). Ele produz pêlos mal formados que tem a forma de uma chama. Todos os três alelos mutantes conhecidos são letais em homozigose recessiva nos zigotos (os zigotos homozigoto para o gene *flr<sup>3</sup>*, não são capazes de desenvolver moscas adultas). Ao contrário, células homozigotas do disco imaginal são viáveis e levam a formação de

células mutantes nas asas. Devido à letalidade no zigoto, o alelo  $flr^3$  é mantido na linhagem estoque com a presença de um balanceador cromossômico com múltiplas inversões cromossômicas (do inglês: TM3, Bds - Third multiple e, Beaded - Serate) (GUZMÁN - RINCÓN & GRAF. 1995).

Durante a metamorfose, as células, ao se diferenciarem, sofrem mutações (dependente do componente teste) nos pêlos das asas, para multiple wing hairs (mwh) e flare - 3 ( $flr^3$ ). As mutações induzidas são detectadas em moscas adultas que apresentam manchas simples (com fenótipo mwh ou  $flr^3$ ) ou gêmeas, com dois tipos de pêlos mutantes.

Os registros dessas frequências e o tamanho de diferentes manchas permitem a determinação quantitativa de efeitos mutagênicos e recombinogênicos.

Este teste é rápido, de fácil realização e baixo custo. Nele, as larvas trans heterozigotas são expostas aos componentes testes por período de tempo variado (GRAF et al., 1984).

Para realização do teste foram utilizada três linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster* : multiple wing hairs (mwh); Flare - 3 ( $flr^3$ ) e ORR.

O SMART, em asas de *Drosophila melanogaster*, foi realizado por meio de dois cruzamentos: 1) Cruzamento padrão (ST – “Standard Cross”) no qual fêmeas virgens da linhagem "flare-3" são cruzadas com machos multiple wing hairs (GRAF et al., 1989); 2) cruzamento de alta bioativação (HB – “High Bioactivation Cross”), no qual fêmeas virgens de linhagem "ORR - Flare-3" com machos "multiple wing hairs" (GRAF & VAN SHAICK, 1992). Desse cruzamento foram obtidos dois tipos de descendentes que foram tratados com finasterida.

## 1.2. Doxorrubicina

A doxorrubicina (DXR) é um antibiótico antineoplástico antraciclínico isolado de culturas do fungo *Streptomyces peucetius* var. *caesius* (GILMAN et al, 1996).

Segundo RANG et al. (1999), muitas funções do DNA são afetadas pela doxorrubicina, inclusive a síntese de DNA e RNA, quebras mono e bifilamentares, troca de cromátides irmãs, pela ação da topoisomerase II, ou pela geração de radicais livres. Sendo, portanto, a doxorrubicina mutagênica e carcinogênica.

A doxorrubicina é metabolizada pelas citocromo P-450 redutase para formar intermediários radicais semiquinonas, os quais são capazes de reagir com o oxigênio para

produzirem radicais de ânion superóxido, esses produtos podem gerar peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila (OH) os quais são citotóxico para as células (GILMAN et al., 1996).

Defesas enzimáticas tais como superóxido dismutase e catalase são consideradas como tendo um papel importante na proteção das células contra a toxicidade da doxorubicina, estas defesas podem ser aumentadas por antioxidantes exógenos, como alfa tocoferol ou por quelante de ferro (GILMAN et al., 1996).

A doxorubicina também pode interagir com membranas celulares e alterar suas funções. Isto pode desempenhar um papel importante tanto nas ações antitumorais quanto na toxicidade cardíaca causada por essa droga (GILMAN et al., 1996).

A principal utilização da doxorubicina é em carcinomas de mama, do endométrio, do ovário, da tireóide e do pulmão, bem como no tratamento de muitos sarcomas incluindo neuroblastoma, sarcoma de Ewing, osteossarcoma e rhabdomyosarcoma. Além disso mostra-se útil no tratamento de neoplasias hematológicas, como a leucemia aguda, mieloma múltiplo, doenças de Hodgkin e linfomas não-Hodgkin difusos. A doxorubicina é administrada em combinação com outros agentes (ciclofosfamida, cisplatina e nitrosouréia) com os quais exerce ação sinérgica (KATZUNG, 1995).

O objetivo principal deste estudo foi o de avaliar os possíveis efeitos genotóxicos e antigenotóxicos da finasterida em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Na avaliação da antigenotoxicidade a finasterida foi associada a DXR (0,0125 mg/ML) por serem, tanto a finasterida quanto a DXR, drogas utilizadas no tratamento de câncer.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Agentes químicos

Doxorubicina (DXR) cloridrato de (8S-cis)-10-[(3-amino-2,3,6,-trideoxi-alfa-1-lixohexapiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxiacetil)-1-etóxi-5,12-naftacenodiona (CAS 23214-92-8), Eurofarma Laboratório Ltda., São Paulo, SP, Brasil. Cada frasco contém 10mg de DRX liofilizado. Possui peso molecular 580,0 e fórmula molecular  $C_{27}H_{29}NO_{11}.HCL$ .

Este agente químico foi cedido pela Farmácia Universitária do Centro Universitário de Patos de Minas. No experimento, o agente químico foi dissolvido em Etanol 5% no momento do tratamento das larvas.

## 2.2. Finasterida

Foi utilizado o medicamento com o nome comercial Proscar®, produzido pelo laboratório Merck Sharp & Dohme Ltda. O Proscar em sua composição contém 5,0 mg de finasterida por comprimido.

## 2.3. Teste para detecção de mutação e recombinação somática em células de asas de *Drosophila melanogaster* (GRAF et al., 1984)

Linhagens estoques:

Foram utilizadas três linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster*, portadoras dos marcadores genéticos multiple wing hairs (mwh, 3-0,3) e flare-3 (flr<sup>3</sup>, 3-38,8)

1. multiple wing hairs (mwh), com constituição genética y: mwh jv.
2. Flare - 3 (flr<sup>3</sup>), com constituição genética flr<sup>3</sup>/In(3LR)TM3, ri p<sup>p</sup> sep l(3)89Aa bx<sup>34e</sup> e Bd<sup>s</sup>.
3. ORR; flare - 3 (ORR; flr<sup>3</sup>) com constituição genética ORR; flr<sup>3</sup>/ In(3LR)TM , ri p<sup>p</sup> sepl(3)89Aa bx<sup>34e</sup> e Bd<sup>s</sup>.

Os estoques foram mantidos em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura de *Drosophila melanogaster* (820 mL de água, 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*), 11 g de ágar, 156g de banana, 1 g de nipagin).

## 2.4. Cruzamentos entre as linhagens mutantes

### 1 - Cruzamento padrão (ST- Standard Cross) (GRAF et al.,1989)

Fêmeas virgens flr<sup>3</sup>/ In(3LR)TM3, ri p<sup>p</sup> sepl(3)89Aa bx<sup>34e</sup> e Bd<sup>s</sup> cruzadas com machos mwh/mwh.

### 2 - Cruzamento de alta biotivação (HB - High Bioactivation Cross") (GRAF & VAN SCHAICK, 1992).

Fêmeas virgens ORR; flr<sup>3</sup>/ In(3LR)TM3, ri p<sup>p</sup> sepl(3)89Aa bx<sup>34e</sup> e Bd<sup>s</sup> cruzadas com machos mwh/mwh.

Desses cruzamentos foram obtidos dois tipos de descendentes: marcador trans-heterozigoto (MH:  $mwh +/+ flr^3$ ), e balanceador heterozigoto (BH:  $mwh +/-TM3, Bd^S$ ). As larvas, de ambos genótipos, emergentes destes cruzamentos, foram tratadas com diferentes concentrações do agente químico a ser testado.

Os ovos foram coletados por um período de 8 horas em frascos contendo uma base sólida de ágar (4% de ágar em água) e uma camada de fermento (*S. cerevisiae*) suplementado com açúcar. Após 72 +/- 4 horas, as larvas de 3º estágio foram lavadas com água corrente e coletadas com auxílio de uma peneira de malha fina. Grupos de aproximadamente 100 larvas foram transferidas para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,0 cm de altura) contendo 1,5 g de meio de cultura instantânea (fórmula 4-24 Carolina Biological Supply Co., Burlington, NC, USA) e 5,0 mL de diferentes concentrações do agente a ser testado.

De ambos os cruzamentos foram obtidos dois tipos de descendentes: 1 trans-heterozigoto marcado ( $mwh +/+ flr^3$ ) - asas fenotipicamente do tipo selvagem e, heterozigoto balanceado ( $mwh +/- TM3 Bds$ ) - asas fenotipicamente do tipo serrilhada.

## 2.5. Os tratamentos foram realizados de acordo com o protocolo abaixo

Larvas de 72 horas de idade, provenientes dos cruzamentos padrão e de alta capacidade de bioativação foram transferidas para frascos contendo 1,5 g de meio de cultura instantâneo para *Drosophila*, aos quais foram adicionados separadamente 1,0; 3,0 e 5,0mg de finasterida por mL de etanol a 10%. Um controle positivo (DXR – 0,125mg/mL) e um controle negativo (etanol 5%) foram incluídos em ambos os cruzamentos.

## 2.6. Análise microscópica das asas

A análise das asas foi realizada em microscópio óptico (objetiva 40x). Foram registrados o número e os tipos de manchas encontradas (simples ou gêmeas), assim como o tamanho das mesmas, e a posição em que se encontram na asa. Aproximadamente 24.800 células serão analisadas por asa.

Ao final da análise, foram comparadas as frequências de mutações encontradas nas moscas tratadas com a finasterida com as encontradas nos controles negativo.

## 2.7. Análise estatística

A análise estatística, para a verificação da possível ação genotóxica da finasterida, foi realizada por meio de uma variação do teste do qui-quadrado descrito por FREI & WURGLER (1988). Foi empregado o processo de múltipla decisão, que se baseia em duas hipóteses.

(i) a freqüência de mutação (induzida mais espontânea) na serie tratada não é maior do que a freqüência de mutação no controle apropriado

(ii) a freqüência de mutação induzida na serie tratada não é maior que m vezes a maior freqüência de mutação espontânea observada no controle.

Este processo foi utilizado para decidir se o resultado foi:

(i) positivo: rejeita-se a primeira hipótese e aceita-se a segunda;

(ii) fraco positivo: rejeita-se ambas as hipóteses;

(iii) inconclusivo: aceita-se ambas hipóteses;

(iv) negativo: aceita-se a primeira hipótese e rejeita-se a segunda.

Devido à alta freqüência espontânea de manchas simples pequenas e do total de manchas, o valor de m foi fixado em 2 (testando-se o dobro da freqüência espontânea para definir um resultado negativo), enquanto que, para manchas simples grandes e manchas gêmeas, que apresentam uma baixa freqüência espontânea, o valor de m foi, então, fixada em 5.

Para ambas as hipóteses testadas utilizou-se um nível de significância de 5%.

Para a análise de antigenotoxicidade as freqüências de cada tipo de mancha, por mosca, foram comparadas aos pares (exemplo: Controle negativo versus finasterida; agente genotóxico isoladamente versus finasterida mais agente genotóxico) (FREI & WURGLER, 1995).

## 3. Resultados

### 3.1. Avaliação da genotoxicidade da finasterida

A tabela 1 mostra os resultados obtidos na análise dos descendentes trans-heterozigotos marcados (MH), do cruzamento padrão (ST) e do cruzamento de alta bioativação metabólica (HB), tratados com diferentes concentrações de finasterida (0,5; 1,0 e 1,5mg/mL) e o controle negativo (etanol 5%).

Os resultados mostraram que nos descendentes de ambos os cruzamentos (padrão e alta bioativação) foram inconclusivo nas freqüências de manchas pequenas simples, manchas grande simples, manchas gêmeas e no número total de manchas quando comparadas com o controle etanol 5%.

A figura 1 mostra as freqüências totais de manchas mutantes, observada em asas dos descendentes “MH” de *D. melanogaster*, provenientes dos cruzamentos “ST” e “HB”, tratados com finasterida em diferentes concentrações (0,5; 1,0 e 1,5 mg/mL) e etanol 5%.

### 3.2. Avaliação da antigenotoxicidade da finasterida

Os resultados obtidos na análise dos descendentes trans-heterozigotos marcados (MH), de ambos os cruzamentos (padrão e de alta bioativação), tratados com diferentes concentrações de finasterida (0,5; 1,0 e 1,5mg/mL) associado com a doxorrubicina (DXR) são mostrados na tabela 2.

Nos descendentes do cruzamento padrão (“ST”) não foi verificada uma redução estatisticamente significativa, nas freqüências totais de manchas nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/mL de finasterida associado à doxorrubicina. No entanto, na concentração de 1,5 mg/mL foi observada uma redução, estatisticamente significativa, nas freqüências totais de manchas, bem como, de manchas simples pequenas e manchas gêmeas. Na categoria de manchas simples grandes e manchas gêmeas os resultados formaram inconclusivos na concentração 0,5 mg/mL de finasterida associada à doxorrubicina.

TABELA 1 – Freqüências de manchas mutantes observadas nos descendentes “MH” de *Drosophila melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação (HB), tratados com diferentes concentrações de finasterida.

Tratamentos	N. de Manchas por indivíduo ( no. de manchas ) diag. estatístico <sup>a</sup>					Total manchas mwh <sup>c</sup> ( n )
	Indiv. ( N )	MSP (1-2 céls) <sup>b</sup> m = 2	MSG (>2 céls) <sup>b</sup> m = 5	MG m = 5	TM m = 2	

Cruzamento ST:

Etanol 5%	10	0,20 (02)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,20 (02)	2
Finasterida 0,5 mg/mL	10	0,40 (04) i	0,10 (01) i	0,00 (00) i	0,50 (05) i	5
Finasterida 1,0 mg/mL	10	0,20 (02) i	0,10 (01) i	0,00 (00) i	0,30 (03) i	3
Finasterida 1,5 mg/mL	10	0,40 (04) i	0,30 (03) i	0,10 (01) i	0,80 (08) i	8

Cruzamento HB:

Etanol 5%	10	0,60 (06)	0,10 (01)	0,00 (00)	0,70 (07)	7
Finasterida 0,5mg/mL	10	0,50 (05) i	0,10 (01) i	0,00 (00) i	0,60 (06) i	6
Finasterida 1,0mg/mL	10	0,60 (06) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,60 (06) i	6
Finasterida 1,5mg/mL	8	1,00 (08) i	0,38 (03) i	0,13 (01) i	1,50 (12) i	12

<sup>a</sup>Diagnóstico 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  $\alpha = \beta = 0,05$ .

<sup>b</sup>Incluindo manchas simples  $flr^3$  raras.

<sup>c</sup>Considerando os clones mwh para as manchas simples mwh e para as manchas gêmeas.

TABELA 2 – Frequências de manchas observada nos descendentes “MH” de *Drosophila melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação (HB), tratados com diferentes concentrações de finasterida associada com doxorubicina 0,125mg/mL

Genótipos Tratamentos	N. de Indiv. ( N )	N. de Manchas por indivíduo ( no. de manchas ) diag. estatístico <sup>a</sup>				Total manchas mwh <sup>c</sup> ( n )
		MSP (1-2 céls) <sup>b</sup> m = 2	MSG (>2 céls) <sup>b</sup> m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
Cruzamento ST:						
Etanol 5%	10	0,20 (02)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,20 (02)	
DXR 0,125 mg/mL	7	4,14 (29) +	1,71 (12) +	2,00 (14) +	7,86 (55) +	55
Finasterida 0,5 mg + DXR 0,125mg/mL	10	3,30 (33) -	2,70 (27) i	1,60 (16) i	7,60 (76) -	75
Finasterida 1,0 mg + DXR 0,125mg/mL	10	4,50 (45) -	1,20 (12) -	0,60 (06) +	6,30 (63) -	62
Finasterida 1,5 mg + DXR 0,125mg/mL	10	0,80 (08) +	1,00 (10) i	0,60 (06) +	2,40 (24) +	24
Cruzamento HB:						
Etanol 5%	10	0,60 (06)	0,10 (01)	0,00 (00)	0,70 (07)	
DXR 0,125mg/mL	10	5,80 (58) +	3,40 (34) +	3,90 (39) +	13,10 (131) +	129
Finasterida 0,5mg + DXR 0,125 mg/mL	10	2,20 (22) +	0,60 (06) +	0,40 (04) +	3,20 (32) +	31
Finasterida 1,0mg + DXR 0,125 mg/mL	10	2,10 (21) +	0,50 (05) +	0,20 (02) +	2,80 (28) +	28
Finasterida 1,5mg + DXR 0,125 mg/mL	6	2,33 (14) +	1,00 (06) +	1,33 (08) +	4,67 (28) +	28

<sup>a</sup>Diagnóstico 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  $\alpha = \beta = 0,05$ .

<sup>b</sup>Incluindo manchas simples  $flr^3$  raras.

<sup>c</sup>Considerando os clones mwh para as manchas simples mwh e para as manchas gêmeas.

Nas freqüências de manchas gêmeas, ainda dos descendentes do cruzamento padrão, foi verificada uma redução, estatisticamente significativa, na concentração de 1,0 mg/mL.

Foi verificada, nos descendentes de alta bioativação ("HB"), uma redução, estatisticamente significativa, nas freqüências totais de manchas mutantes, nos indivíduos tratados com finasterida (0,5; 1,0 e 1,5 mg/mL) associada com doxorrubicina (0,125 mg/mL).

Nas diferentes categorias de manchas mutantes as freqüências observadas tiveram, também, uma redução estatisticamente significativa nas freqüências para as manchas simples pequenas, manchas simples grandes e manchas gêmeas, em todas as concentrações testadas da associação da finasterida com a doxorrubicina.

A redução do número total de manchas foi maior nas concentrações 0,5 e 1,0 mg/mL, nos descendentes do cruzamento de alta bioativação.

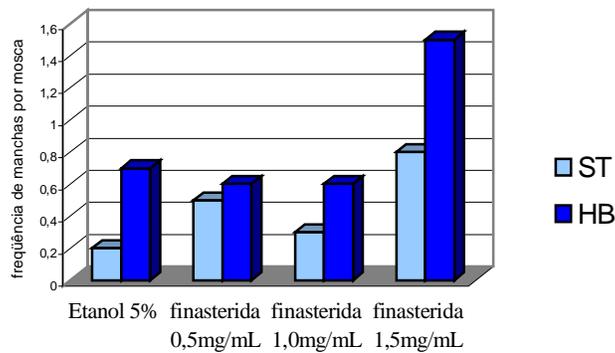


Figura 1: Freqüências totais de manchas mutantes por mosca, observada em asas dos descendentes MH de *Drosophila melanogaster*, provenientes do cruzamento ST e HB, tratados com diferentes concentrações de finasterida e etanol 5%.

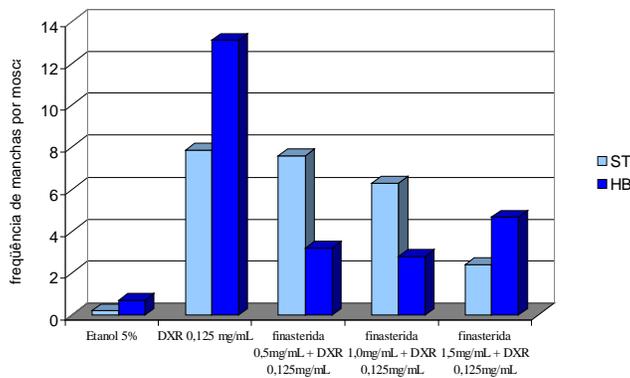


Figura 2: Freqüências totais de manchas mutantes por mosca, observada em asas dos descendentes MH de *Drosophila melanogaster*, provenientes do cruzamento ST e HB, tratados

com diferentes concentrações de finasterida associada a doxorrubicina, etanol 5% e doxorrubicina somente.

#### 4. Discussão e conclusão

A finasterida está sendo muito utilizada por pessoas com predisposição genética à calvície e na prevenção de câncer de próstata, bem como, no tratamento desse câncer quando ainda benigno. Considerando que possui poucos estudos em relação aos efeitos genotóxicos da finasterida, o uso constante é uma preocupação. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo a verificação dos efeitos genotóxicos e antígenotóxicos da finasterida.

Para a verificação da mutagenicidade ou genotoxicidade de compostos químicos, têm sido desenvolvidos testes em *Drosophila melanogaster*, os quais são capazes de medir, em amplo espectro, danos induzidos em células somáticas (GRAF et al, 1984).

O teste para detecção de mutação e recombinação somática (Somatic Mutation And Recombination Test – SMART) foi utilizado para avaliar a atividade genotóxica e antígenotóxica da finasterida em células de asas de *Drosophila melanogaster*.

Para avaliar a atividade genotóxica da finasterida foram realizados tratamentos em três concentrações (0,5; 1,0 e 1,5 mg/mL). Nos descendentes trans-heterozigotos marcados, de ambos cruzamentos (“ST” e “HB”), na concentração de 1,5 mg/mL de finasterida, verificou-se um aumento, porém não significativo, nas frequências de manchas mutantes, o que não foi verificado nas outras concentrações.

No teste de aberração cromossômica, em hamster tratados com altas concentrações de finasterida (450 – 550 mmol), que corresponde a 18 a 22 mil vezes maiores que a concentração encontrada no plasma de homens, ocorreu um pequeno aumento na taxa de aberração cromossômica (FDA, 2003). Por outro lado a finasterida não mostrou ser genotóxica em teste feito com bactérias *in vitro* utilizando teste para detecção de células mutantes (FDA, 2003).

Na associação da finasterida com a doxorrubicina 0,125 mg/mL, do cruzamento padrão, não se verificou uma diminuição nas frequência de manchas, nas concentrações 0,5 e 1,0 mg/mL. Este resultado mostra que, nessas concentrações, a finasterida não exerce efeito antígenotóxico. Na concentração de 1,5 mg/mL, associada a doxorrubicina, verifica-se uma redução no número total de manchas. Sendo assim, quando associada com a doxorrubicina, a finasterida, nessa concentração, exerce efeito antígenotóxico.

IMADA et al. (1997) demonstraram em ratos Wistar, tratados com finasterida (2mg/Kg), por sete semanas, uma redução significativa no número de animais com câncer, quando comparados com o grupo controle.

Nos descendentes do cruzamento "HB" houve uma maior diminuição nas freqüências de manchas. É possível que essa maior diminuição seja devido aos altos níveis de citocromo P450 produzido pelos descendentes desse cruzamento. De acordo com HUSKEY et al. (1995) a finasterida é metabolizada pelas isoenzimas citocromo P450. Esse resultado mostra a necessidade de bioativação da finasterida.

É possível que a maior bioativação da finasterida pelas citocromo P450 tenha levado a formação de metabólitos que de alguma maneira interagiram com a DXR. Esta interação levou a uma diminuição nas freqüências de manchas provocada pela ação genotóxica da doxorubicina, nos descendentes do cruzamento de alta bioativação (HB).

Concluimos, portanto, que a finasterida não possui efeito genotóxico em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Verificamos, também, que nos tratamentos da associação da finasterida com a doxorubicina (0,125 mg/mL) obtivemos resultados de ação antigenotóxica, nos descendentes do cruzamento de alta bioativação, em todas as concentrações testadas.

## 5. Referências bibliográficas

FDA – [www.rxlist.com/cgi/generic/finas\\_pi.htm](http://www.rxlist.com/cgi/generic/finas_pi.htm) - acessado em 2003.

FIELD, K. J.; & LANG, C. M. Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature. *Lab. Anim.*, 22:255-262. 1988.

FREI, H.; & WURGLER, F. E. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assay indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutation Res.*, 203:297-308. 1988.

FREI, H.; & WURGLER, F. E. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from Somatic Mutation And Recombination Test (SMART) in *Drosophila*. *Mutation Res.*, 341:235-247. 1995.

GILMAN, Alfred G.; LIMBIRD, Lee E.; HARDMAN, Joel G. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10<sup>a</sup> Edition. Editora Mc Graw-Hill United States of American. 2001.

GRAF, U.; WÜRGLER, F. E.; KATZ, A. J.; FREI, H.; HALL, C. B.; & KALE, P. B. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* 6:153-188. 1984.

GRAF, U.; FREI, A.; KAGI, A.; KATZ, A. J.; & WÜRGLER, F. E. Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test. *Mutation Res.*, 222:359-373. 1989.

GRAF, U.; & VAN SCHAIK, N. Improved high bio activations cross for the wing somatic mutations and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Res.*, 271:59-67. 1992.

GUZMÁN-RICON, J.; & Graf, U.. *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. In : *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*, Edit by F. M. Butterworth et al., Plenum Press, N.Y., pp 169-181. 1995.

HARDAMAN, Joel G.; & LIMBIRD, Lee E. *The pharmacological basis of therapeutics*. 10<sup>o</sup> Edição. New York. International Edition. 2001.

HUSKEY, S. W.; DEAN, D. C.; MILLER, R.R.; RASMUSSEN, G. H.; & CHIU, S. H. Identification of human cytochrome p450 isozyme responsible for the in vitro oxidative metabolism of finasteride. *Drug Metab Dispos*, 23: 1126-35. 1995.

IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISK OF CHEMICAL TO MAN. Some naturally occurring substances. International Agency for Research on Cancer, 7:111-140. 1974.

IMADA, S.; AKAZA, H.; AMI, Y.; KOISO, K.; IDEYAMA, Y.; TAKENAKA, T. Promoting effects and mechanisms of action of androgen in bladder carcinogenesis in male rats. *Eur Urol* 31:360-4. 1997

KATZUNG, Bertram G. *Farmacologia básica e clínica*. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan S/A. 1995.

OVERSTREET, J. W.; FUH, V. L.; GOULD, D. J.; HOWARDS, S.S.; LIEBER, M.M.; HELLSTROM, W.; SHAPIRO, S.; CARROLL, P.; CORFMAN, K. S.; PETROU, S.; LEWIS, R.; TOTH, P.; SHOWN, T.; ROY, J.; JAROW, J. P.; BONILLA, J.; JACOBSEN, C.A.; WANG, D.Z.; & KAUFMAN, K.D. Chronic treatment with finasteride daily does not affect spermatogenesis or semen production in young men. *J Urol*, 162: 1295-300. 1999.

RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. *Farmacologia*. 4<sup>a</sup> ed. Editora. Rio de Janeiro – RJ. Guanabara Koogan S/A. 1999.

STEERS, W. D., 5alfa – Reductase activity in the prostate. *Urology* 58:17 – 25. 2001.

STEINER, J. F. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of finasteride. *Clin Pharmacokinet*, 30: 16-27. 1996.

WILDE, M. I.; & GOA, K. L. Finasteride: an update of its management of symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Drugs*, 57: 55