

Análise de carcinogenicidade na administração de agomelatina em *Drosophila melanogaster*

Carcinogenicity Analysis of Agomelatine Administration in Drosophila melanogaster

YURI PEREIRA DA SILVA
Discente de Medicina (UNIPAM)
yurips@unipam.edu.br

LUANA TAMIRES DA SILVA ALVES
Discente de Medicina (UNIPAM)
luanatsa@unipam.edu.br

PAULA MARYNELLA ALVES PEREIRA LIMA
Professora orientadora (UNIPAM)
paulamp@unipam.edu.br

Resumo: A agomelatina é um antidepressivo atípico caracterizado pelo agonismo dos receptores melatoninérgicos MT1 e MT2 e antagonismo dos receptores serotoninérgicos 5-HT2C. Considerando que a modulação de vias oxidativas e inflamatórias pode influenciar processos carcinogênicos, este estudo avaliou o potencial carcinogênico da agomelatina em *Drosophila melanogaster*. Foi realizado o teste de tumores epiteliais utilizando larvas de terceiro ínstar provenientes do cruzamento das linhagens wts/TM3 e mwh/mwh. As larvas foram expostas por 48 horas a diferentes concentrações de agomelatina (250 mg, 500 mg e 1000 mg). A doxorubicina (0,4 mM) foi utilizada como controle positivo e água de osmose reversa como controle negativo. A análise estatística foi realizada pelo teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Após o desenvolvimento, os indivíduos adultos foram analisados quanto à presença de tumores epiteliais em diferentes segmentos corporais. Observou-se aumento da frequência tumoral nas maiores concentrações testadas, evidenciando o potencial carcinogênico da agomelatina em *Drosophila melanogaster*. Apesar do efeito carcinogênico encontrado em nosso estudo, os resultados obtidos devem ser validados em modelos de mamíferos, uma vez que as diferenças entre os organismos podem influenciar na metabolização de fármacos.

Palavras-chave: agomelatina; carcinogênese; *Drosophila melanogaster*; tumores epiteliais.

Abstract: Agomelatine is an atypical antidepressant characterized by agonism at melatonergic MT1 and MT2 receptors and antagonism at serotonergic 5-HT2C receptors. Considering that the modulation of oxidative and inflammatory pathways may influence carcinogenic processes, this study evaluated the carcinogenic potential of agomelatine in *Drosophila melanogaster*. The epithelial tumor test was performed using third-instar larvae obtained from crosses between the wts/TM3 and mwh/mwh strains. The larvae were exposed for 48 hours to different concentrations of agomelatine: 250 mg, 500 mg, and 1000 mg. Doxorubicin (0.4 mM) was used as the positive control, and reverse osmosis water was used as the negative control. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test ($p < 0.05$). After development, adult individuals were analyzed for the presence of epithelial tumors in different body segments. An increase in tumor frequency was observed at the highest concentrations tested, demonstrating the carcinogenic

potential of agomelatine in *Drosophila melanogaster*. Despite the carcinogenic effect found in this study, the results should be validated in mammalian models, since differences between organisms may influence drug metabolism.

Keywords: agomelatine; carcinogenesis; *Drosophila melanogaster*; epithelial tumors.

1 INTRODUÇÃO

A agomelatina (7-Methoxy-N-acetyl-1-naphthylethylamina) é um antidepressivo atípico aprovado para o tratamento do transtorno depressivo maior, caracterizado por um mecanismo farmacodinâmico singular que combina agonismo dos receptores melatoninérgicos MT1 e MT2 e antagonismo dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{2C} (Abritalin; Khabarov, 2024). Tal perfil confere ao fármaco propriedades cronobiológicas e moduladoras da neurotransmissão dopaminérgica e noradrenérgica cortical, diferenciando-o dos antidepressivos clássicos baseados na inibição da recaptação de monoaminas. A agomelatina também exerce efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, modulando vias intracelulares relacionadas ao estresse oxidativo, à expressão de fatores neurotróficos e à regulação da sobrevivência celular (Mariani *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo constitui mecanismo central na carcinogênese, promovendo danos ao DNA, instabilidade genômica e alterações epigenéticas cumulativas. Fármacos capazes de modular tais vias podem influenciar processos de iniciação e progressão tumoral. Nesse contexto, torna-se relevante investigar se a agomelatina apresenta efeito neutro, pró-carcinogênico ou anticarcinogênico em modelos experimentais (Kundu *et al.*, 2024).

Por outro lado, a doxorrubicina, antraciclina amplamente utilizada na prática oncológica, atua por intercalamento no DNA, inibição da topoisomerase II e geração de espécies reativas de oxigênio. Embora eficaz como agente antineoplásico, apresenta reconhecido potencial genotóxico em modelos experimentais, sendo empregada como indutora de mutagênese e tumorigênese em sistemas biológicos. Aumento significativo da frequência de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster* foi evidenciado após exposição à doxorrubicina, validando seu uso como controle positivo em ensaios de carcinogenicidade (Bisht *et al.*, 2024).

A *Drosophila melanogaster* representa modelo experimental consolidado em toxicologia genética e biologia tumoral, especialmente por meio do teste de tumores epiteliais baseado no gene supressor tumoral *WARTS*, homólogo funcional da via Hippo em mamíferos. A via Hippo regula proliferação celular, apoptose e controle do crescimento tecidual, sendo altamente conservada evolutivamente e implicada em diversos cânceres humanos. Considerando a homologia genética significativa entre drosófila e humanos, esse modelo permite inferências translacionais preliminares (Gilhaus *et al.*, 2023).

Diante da escassez de dados recentes acerca da influência da agomelatina sobre processos carcinogênicos, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial carcinogênico da agomelatina em *Drosophila melanogaster*, por meio do teste de tumores epiteliais, utilizando a doxorrubicina como controle positivo e a água de osmose reversa como controle negativo.

2 METODOLOGIA

O presente estudo consiste em uma pesquisa experimental, que foi realizada no Laboratório de Citogenética e Mutagenese do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), Patos de Minas (MG). O laboratório dispõe das linhagens de *Drosophila melanogaster*, bem como de outros aparatos necessários para o desenvolvimento da pesquisa.

Os agentes químicos utilizados foram a agomelatina (7-Methoxy-N-acetyl-1-naphthylethylamina). Esse medicamento tem sua venda realizada sob prescrição médica. Cada comprimido comporta 25 mg de princípio ativo para uso oral. Já a doxorrubicina, agente químico de ação citotóxica, foi utilizada como controle positivo na concentração de 0,4mM, com efeito carcinogênico comprovado em *D. melanogaster* por estudos prévios (Silva *et al.*, 2021; Vasconcelos *et al.*, 2020). Cada frasco-ampola comporta 50 mg de pó liofilizado para uso injetável.

Para a realização do teste de tumores epiteliais em *D. melanogaster* (ETT), foram utilizadas duas linhagens mutantes da espécie, as linhagens wts e mwh, as quais respectivamente possuem os marcadores genéticos warts (wts, 3-100) e multiple wing hairs (mwh, 3-0,3). Elas são armazenadas em frascos de 250 mL que contém meio de cultura fabricado com água, fermento biológico fresco (*Saccharomyces cerevisiae*), ágar, bananas e metilparabeno, apropriado para a espécie. Sua manutenção foi realizada na incubadora B.O.D. 411 D, em temperatura de 25 °C e umidade de 60%.

Para o desenvolvimento da pesquisa, o cruzamento de fêmeas virgens da linhagem wts/TM3, Sb1 com machos da linhagem mwh/mwh foi realizado. Os ovos provenientes desse cruzamento foram postos dentro de 8 horas. Em seguida, foram coletadas as larvas resultantes da eclosão dos ovos descendentes com o auxílio de peneira de malha fina, que foram higienizadas com água de osmose reversa. Larvas de 3º ínstar receberam tratamento crônico, por um período de 48 horas. Nesse ínterim, as larvas foram mantidas em frascos de vidro com 1,5g de purê de batatas. A agomelatina foi testada em 3 concentrações distintas (250mg, 500mg e 1000mg) que foram adicionadas ao purê, que foi ingerido pelas larvas. Já para o controle positivo, 5 mL de doxorrubicina foram adicionados ao purê de outro frasco; e para o controle negativo, 5mL de água foram adicionados em um terceiro frasco. Os tratamentos foram conduzidos em triplicata.

As larvas se alimentaram desse composto por 48 horas, até o período em que findaram a metamorfose. Após 120 horas do período de alimentação, as moscas (resultantes da metamorfose) foram coletadas e preservadas em etanol (C₂H₆O) 70% permitindo a análise posterior de sua estrutura corporal.

As moscas do genótipo wts+/+mhw foram separadas e identificadas pela presença de pelos selvagens fenotípicos (longos e finos). As demais moscas, que apresentaram pelos curtos e grossos, foram descartadas, já que não possuem o gene que foi estudado.

A análise de pelos e tumores foi realizada com o auxílio de uma lupa estereoscópica, placa escavada e glicerina (C₃H₈O₃). Os resultados foram tabulados com base no número de tumores encontrados em cada região corpórea das moscas, segmentadas em: cabeça, olhos, corpo, asas, pernas e halteres.

As diferenças estatísticas entre a frequência de tumor das concentrações testadas e os controles (positivo e negativo) foram calculadas utilizando o teste U, não paramétrico, de Mann-Whitney, empregando o nível de significância $< 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo foi realizado a partir da diluição da agomelatina em diferentes concentrações (250mg, 500mg e 1000mg), além do controle positivo (DXR 0,4mM) e controle negativo (água osmose reversa). Na Tabela 1, é possível verificar as frequências de tumores encontrados nos diferentes segmentos do corpo de *D. melanogaster*, obtidos por meio da análise tumoral. A avaliação mostra que a agomelatina apresentou potencial carcinogênico relevante nas concentrações 500 mg e 1000 mg, uma vez que houve diferença estatisticamente significativa entre as frequências tumorais nessas concentrações quando comparado ao controle negativo ($p < 0,05$).

Tabela 1: Frequência de tumores observados nos descendentes de *D. melanogaster*, tratados com diferentes concentrações de agomelatina.

	Indivíduos (moscas)	Tumores encontrados						Total	Freq.
		Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halteres		
Controle Água	106	0	1	2	3	1	1	8	0,07
DXR 0,4 mM	72	5	13	56	47	0	8	133	1,84*
Agomelatina 250mg	91	0	0	1	6	2	0	9	0,09
Agomelatina 500mg	109	1	0	6	64	1	4	76	0,69*
Agomelatina 1000mg	143	4	3	7	85	0	0	99	0,69*

Freq.: frequência de tumores obtida pela divisão do número total de tumores pelo número de moscas analisadas

* valor considerado estatisticamente significativo em relação ao controle negativo ($p < 0,05$) de acordo com o teste U.

Nos indivíduos tratados com o controle negativo (água de osmose reversa), observou-se frequência média de 0,07 tumores por mosca. Esse resultado é compatível com a ocorrência basal de eventos mutacionais espontâneos em *D. melanogaster*, fenômeno intrínseco ao metabolismo celular e frequentemente observado em ensaios de tumorigênese nesse organismo modelo, justificando o uso do controle negativo para estabelecer a frequência tumoral de base (Cho *et al.*, 2024).

Nas moscas tratadas com controle positivo (doxorrubicina 0,4 mM), observou-se frequência tumoral média de 1,84 tumores por indivíduo, evidenciando a viabilidade da linhagem utilizada e sua adequada resposta à indução tumoral. Os resultados obtidos neste estudo experimental demonstraram que a exposição à doxorrubicina promoveu aumento significativo na frequência de tumores epiteliais em *D. melanogaster*, corroborando evidências previamente descritas acerca do potencial genotóxico desse fármaco. O mecanismo molecular subjacente envolve principalmente a intercalação no DNA, inibição da topoisomerase II e geração de espécies reativas de oxigênio, resultando

em instabilidade genômica e mutações somáticas, fenômenos intrínsecos à carcinogênese (Silva *et al.*, 2021).

Nos grupos experimentais tratados com agomelatina, observou-se variação na frequência tumoral entre as diferentes concentrações testadas. Na concentração de 250mg, foram obtidas 91 moscas, nas quais foram observados 9 tumores, correspondendo a uma frequência de 0,09 tumor por mosca. Na concentração de 500mg, entre 109 indivíduos, foram identificados 76 tumores, resultando em frequência de 0,69 tumor por indivíduo. Por fim, na concentração de 1000mg em 143 moscas analisadas foram encontrados 99 tumores, o que correspondeu a 0,69 tumor por mosca.

O aumento significativo de tumores no grupo tratado exclusivamente com agomelatina sugere que o fármaco apresenta efeito carcinogênico nas maiores concentrações detectável no modelo experimental utilizado. Uma hipótese mecanística para o aumento da frequência de tumores epiteliais observado neste estudo pode estar relacionada à modulação de vias celulares que influenciam a sobrevivência e a proliferação de clones celulares portadores de perda de heterozigose (LOH) em genes supressores tumorais. O teste de tumores epiteliais em *D. melanogaster* detecta eventos de LOH no gene *WARTS* (*WTS*), componente central da via Hippo, altamente conservada evolutivamente e responsável pelo controle da proliferação celular, apoptose e homeostase tecidual. A inativação funcional desse gene leva à ativação de fatores transcricionais pró-proliferativos favorecendo a expansão clonal de células mutantes e a formação de tumores epiteliais (Brown; Su, 2023). A agomelatina pode modular vias intracelulares relacionadas ao estresse oxidativo, à regulação metabólica e à sobrevivência celular, incluindo o eixo SIRT1/FoxO1, além de influenciar a expressão de genes do relógio circadiano envolvidos no controle do ciclo celular e no reparo do DNA. Alterações nesses sistemas regulatórios podem modificar o equilíbrio entre proliferação e apoptose, permitindo a sobrevivência e expansão de clones celulares com perda funcional de genes supressores tumorais, como *WTS*. Assim, o aumento da frequência tumoral observado no modelo experimental pode refletir não necessariamente um efeito mutagênico direto da agomelatina, mas uma modulação indireta de vias celulares que favorecem a expansão de células geneticamente alteradas (Zhang *et al.*, 2026).

Apesar da significância estatística observada, é importante considerar limitações inerentes ao modelo experimental utilizado. Embora *D. melanogaster* apresente elevada conservação de vias moleculares relevantes para carcinogênese, diferenças metabólicas entre insetos e mamíferos podem influenciar a farmacocinética das substâncias testadas. Assim, os resultados obtidos devem ser interpretados como evidência inicial de potencial efeito carcinogênico, necessitando validação em modelos celulares e animais vertebrados.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da análise tumoral em *D. melanogaster*, observa-se que a agomelatina induziu a formação de tumores epiteliais mediante aumento das concentrações testadas. Esse fármaco levou a perda da heterozigose do supressor tumoral, *WARTS*, levando à formação de clones de tumores epiteliais. Apesar dos achados deste estudo, são necessárias novas pesquisas, com amostras maiores, diferentes sistemas orgânicos e

diferentes metodologias para melhor entendimento dos mecanismos moleculares por trás da carcinogenicidade.

REFERÊNCIAS

- ABRITALIN, E. Y.; KHABAROV, I. Y. Antidepressants in psychiatric practice. **Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova**, v. 124, n. 6, p. 126-132, 2024.
- BIPARVA, A. J. *et al.* Global depression in breast cancer patients: Systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 18, n. 7, p. e0287372-e0287372, 26 jul. 2023.
- BISHT, A. *et al.* A comprehensive review on doxorubicin: mechanisms, toxicity, clinical trials, combination therapies and nanoformulations in breast cancer. **Drug delivery and translational research**, v. 15, 17 jun. 2024.
- BROWN, J.; SU, T. T. E2F1, DIAP1, and the presence of a homologous chromosome promote while JNK inhibits radiation-induced loss of heterozygosity in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, v. 226, n. 1, 24 out. 2023.
- CHO, Y. *et al.* *Drosophila melanogaster* as potential alternative animal model for evaluating acute inhalation toxicity. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 49, n. 2, p. 49–53, 1 jan. 2024.
- DIL, E. *et al.* Agomelatine on cisplatin-induced nephrotoxicity via oxidative stress and apoptosis. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 396, n. 10, p. 2753-2764, out. 2023.
- GILHAUS, K. *et al.* Activation of Hippo Pathway Damages Slit Diaphragm by Deprivation of Ajuba Proteins. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 34, n. 6, p. 1039-1055, 16 mar. 2023.
- KUBANEK, A. *et al.* Use of sertraline and agomelatine in hemodialysis patients: a case series report. **Acta Biochimica Polonica**, 3 dez. 2023.
- KUNDU, M. *et al.* Modulation of the tumor microenvironment and mechanism of immunotherapy-based drug resistance in breast cancer. **Molecular cancer**, v. 23, n. 1, 7 maio 2024.
- MARIANI, N. *et al.* Modulation of microglial activation by antidepressants. **Journal of Psychopharmacology**, v. 36, n. 2, p. 131-150, 29 jan. 2022.
- SILVA, T. T. *et al.* Modulating effect of DL-kavain on the mutagenicity and carcinogenicity induced by doxorubicin in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 84, n. 19, p. 769–782, 27 jun. 2021.

VASCONCELOS, M. A. et al. Modulating effect of vitamin D3 on the mutagenicity and carcinogenicity of doxorubicin in *Drosophila melanogaster* and in silico studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 143, p. 111549, set. 2020.

ZHANG, J. Y. *et al.* Agomelatine alleviates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension by activating mitophagy via the SIRT1/FoxO1/ULK1 signaling pathway. **Biochemical pharmacology**, v. 244, p. 117624, fev. 2026.