

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

BIANCA SANTOS BERTOLAZI

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E BIOQUÍMICA EM *Drosophila melanogaster* EXPOSTAS AO COMPOSTO SELENONUCLEOSÍDEO DERIVADO DE ZIDOVUDINA

**Itaqui
2017**

BIANCA SANTOS BERTOLAZI

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E BIOQUÍMICA EM *Drosophila melanogaster* EXPOSTAS AO COMPOSTO SELENONUCLEOSÍDEO DERIVADO DE ZIDOVUDINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Marina Prigol

Coorientadora: Márcia Rósula Poetini

Itaqui

2017

BIANCA SANTOS BERTOLAZI

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E BIOQUÍMICA EM *Drosophila melanogaster* EXPOSTAS AO COMPOSTO SELENONUCLEOSÍDEO DERIVADO DE ZIDOVUDINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 12/06/2017.

Banca examinadora:

Prof. Dr^a Marina Prigol
Orientadora
(Unipampa campus Itaqui)

Nutricionista, Doutoranda em Bioquímica Márcia Rósula Poetini
Coorientadora
(Unipampa campus Uruguaiana)

Nutricionista, MSc. Shanda De Freitas Couto
(Unipampa campus Itaqui)

Dedico este trabalho aos meus avós Telmo Gonçalves Bertolazi (*in memoriam*) e Marta De Leon Bertolazi (*in memoriam*), que me impulsionaram sempre na condução de meus passos. Dedico também às minhas tias Magáli e Isis, por seus exemplos de vida, por todo apoio e carinho durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder saúde e força para superar as dificuldades e por me mostrar que caminhando com perseverança alcançamos nossos objetivos.

A toda minha família que me apoiou sempre, meus avós (*in memoriam*), minha mãe, minhas tias e tio e meus irmãos que nunca mediram esforços para me ajudar em tudo, que sempre entenderam os momentos em que tive que me ausentar. Obrigada por tudo, amo muito todos vocês!

Ao meu amor, meu companheiro e melhor amigo Igor por todo apoio e carinho. Agradeço a Deus por ter colocado você em minha vida.

Agradeço a minha orientadora Prof. Dr^a Marina Prigo por todo conhecimento compartilhado e pela confiança na elaboração deste trabalho, a minha coorientadora MSc. Márcia Poetini por toda ajuda e disponibilidade desde o começo de minhas atividades no laboratório e a Prof. Shanda Couto por aceitar fazer parte da banca, contribuindo assim com seus conhecimentos para o presente trabalho.

A todas as meninas do Laftambio Pampa, sou muito grata pelos ensinamentos, em especial a minha amiga Vandrezza pelo apoio e dedicação de sempre.

Agradeço também as minhas colegas e fiéis companheiras de estudo Nathalie e Eveline, presentes que a faculdade me deu!

A todos que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui, o meu sincero agradecimento.

Este trabalho está na forma de artigo científico seguindo as normas da revista

Revista de nutrição/ Brazilian Journal of Nutrition

Avaliação comportamental e bioquímica em *Drosophila melanogaster* expostas ao composto selenonucleosídeo derivado de zidovudina

Behavioral and biochemical evaluation in *Drosophila melanogaster* exposed to the selenonucleoside compound derived from zidovudine

Categoria

Bioquímica Nutricional

Autor

Bianca Santos Bertolazi¹ (Bertolazi, B.S.) bibertolazi@gmail.com

¹ Curso de Nutrição, Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, Brasil.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. METODOLOGIA.....	10
2.1. Meio de cultura e estoque de <i>Drosophila melanogaster</i>	10
2.2. Protocolo experimental.....	10
2.3. Ensaio <i>in vivo</i>	11
2.3.1. Sobrevivência	11
2.3.2. Teste campo aberto.....	11
2.3.3. Teste geotaxia negativa	12
2.4. Ensaio <i>ex vivo</i>	12
2.4.1. Peroxidação lipídica	12
2.4.2. Atividade das enzimas antioxidantes.....	12
2.4.2.1. Determinação da atividade da enzima catalase (CAT)	12
2.4.2.2. Determinação da atividade da superóxido-dismutase (SOD)	13
2.4.2.3. Atividade da acetilcolinesterase (AChE)	13
2.4.3. Determinação de proteína	14
2.4.4. Análise estatística	14
3. RESULTADOS.....	14
3.1. Sobrevivência	14
3.2. Teste de campo aberto.....	15
3.3. Teste de geotaxia negativa.....	15
3.4. Peroxidação lipídica	16
3.5. Atividade das enzimas antioxidantes.....	17
4. DISCUSSÃO.....	18
5. CONCLUSÃO.....	20

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos do composto selenonucleosídeo derivado de zidovudina através de ensaios *in vivo* e *ex vivo* em *Drosophila melanogaster*, a fim de verificar os possíveis efeitos farmacológicos ou toxicológicos, bem como verificar a concentração em que o composto apresenta atividade biológica.

Métodos: As *Drosophila melanogaster* de ambos os sexos, adultas, com no máximo 3 dias de idade foram divididas em cinco grupos com 30 moscas cada um, sendo eles: (1) controle, (2) 1 μM , (3) 10 μM , (4) 25 μM e (5) 50 μM do composto selenonucleosídeo, adicionado a solução aquosa de sacarose 1% em papel filtro para servir de alimento para as moscas. O tratamento agudo teve um tempo total de 48 horas, sendo que a cada 24 horas foram realizados os ensaios comportamentais de campo aberto e geotaxia negativa assim como a contagem de moscas vivas para avaliação da mortalidade. Ao final das 48 horas as moscas foram eutanasiadas e preparadas para as análises bioquímicas de peroxidação lipídica e atividade das enzimas antioxidantes: catalase, superóxido dismutase e acetilcolinesterase.

Resultados: Não foram observadas diferenças significativas nos testes de sobrevivência e locomotores de campo aberto e geotaxia negativa, demonstrando que as concentrações estudadas do composto não apresentam toxicidade em modelo de *Drosophila melanogaster*. Nos ensaios *ex vivo* de peroxidação lipídica e atividade das enzimas antioxidantes catalase, superóxido dismutase e acetilcolinesterase, também não houve alterações, seus níveis mantiveram-se estáveis em todos os grupos estudados.

Conclusão: O composto selenonucleosídeo não apresentou efeitos tóxicos nos parâmetros avaliados, sendo seguro para o uso em estudos futuros neste modelo.

Palavras-Chave: Nucleosídeos, Zidovudina, Selênio.

ABSTRACT

Objective: To assess the effects of zidovudine-derived selenonucleoside compound by *in vivo* and *ex vivo* assays on *Drosophila melanogaster* in order to verify possible pharmacological or toxicological effects as well as to verify the concentration at which the compound exhibits biological activity.

Methods: *Drosophila melanogaster* of both sexes, adult, with a maximum of 3 days of age were divided into five groups of 30 flies each, being: (1) control, (2) 1 μ M, (3) 10 μ M, (4) 25 μ M and (5) 50 μ M of the selenonucleoside compound added to 1% aqueous sucrose solution in filter paper to serve as food for the flies. The acute treatment had a total time of 48 hours, and the open field behavior and negative geotaxis tests were performed every 24 hours as well as the live fly count for mortality evaluation. At the end of 48 hours the flies were euthanized and prepared for the biochemical analyzes of lipid peroxidation and activity of the antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase and acetylcholinesterase.

Results: The results did not present significant differences in the tests of survival and locomotion of open field and geotaxis negative, demonstrating that the studied concentrations of the compound do not present toxicity in model of *Drosophila melanogaster*. In the *ex vivo* assays of lipid peroxidation and activity of the antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase and acetylcholinesterase, there were also no changes, their levels remained stable in all groups studied.

Conclusion: The compound selenonucleoside did not present toxic effects in the evaluated parameters, being safe for the use in future studies in this model.

Key-words: Nucleosides, Zidovudine, Selenium.

1. INTRODUÇÃO

O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos é complexo, longo e de alto custo, tendo suas raízes profundamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas (GUIDO et al., 2008). Os nucleosídeos têm sido objeto de intensa investigação como uma potencial fonte de medicamentos mais eficazes e menos tóxicos (HOLY, 2006; DE CLERCQ, 2011).

Os nucleosídeos e nucleotídeos são compostos endógenos que estão envolvidos em vários processos celulares, como a síntese de DNA e RNA, sinalização celular, regulação de enzimas e metabolismo. Os análogos de nucleosídeos e nucleotídeos são compostos sintéticos, quimicamente modificados que têm sido desenvolvidos a fim de explorar o metabolismo celular e, subsequentemente, ser incorporado no DNA e RNA para inibir a divisão celular e a replicação viral (JORDHEIM et al., 2013).

Um dos nucleosídeos sintéticos mais utilizados na medicina é o 3'-azido-3'-desoxitimidina (Figura 1), também conhecido como zidovudina ou AZT, utilizado desde 1987, quando foi aprovado para comercialização, pelo órgão norte-americano de controle sobre produtos farmacêuticos FDA (Food and Drug Administration) (SOUZA & STORPIRTIS, 2004).

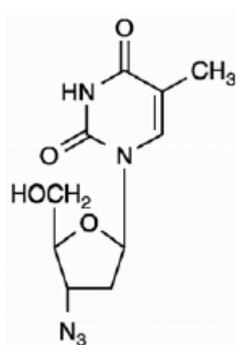


Figura 1 - Fórmula molecular da zidovudina (VEAL, BLACK, 1995).

O AZT é um fármaco utilizado no tratamento da AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), mas não tem eficácia ótima principalmente devido ao intenso metabolismo hepático ao qual é sujeito quando administrado via oral (SILVA, 2006). A toxicidade molecular deste nucleosídeo ainda é indefinida, no

entanto, isso envolve múltiplos mecanismos, incluindo a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SZABADOS et al., 1999). Segundo Jordheim (2013), substâncias estão sendo sintetizadas para modificar a formulação de nucleosídeos e nucleotídeos análogos, modificando as suas propriedades físico-químicas para melhorar sua atividade biológica.

Os compostos orgânicos de selênio têm sido relatados por serem eficazes contra as espécies de radicais livres e apresentarem outras propriedades biológicas importantes, tais como, antioxidantes, anti-tumoral, anti-inflamatórios, anti-infecciosos e atividade antiviral (NAVARRO, 2000). A combinação do selenonucleosídeo biologicamente ativo derivado da zidovudina (Figura 2) mostra-se uma nova classe de compostos biologicamente ativos proeminente de compostos organocalcogêneos (DE SOUZA et al., 2015).

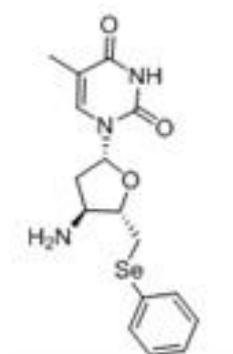


Figura 2 - Fórmula molecular do selenonucleosídeo derivado de zidovudina (DE SOUZA et al., 2015).

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por diversas moléculas naturais presentes nos alimentos, sendo que as principais são os isômeros da vitamina E (tocoferol), os carotenoides e a vitamina C (ácido ascórbico), segundo Silva (2016). Estes possuem a capacidade de atrasar ou inibir o efeito danoso dos radicais livres, ocorrendo naturalmente durante ações catalíticas de enzimas, no metabolismo celular ou pela exposição a fatores exógenos (BIANCHI & ANTUNES, 1999; BARREIROS et al., 2006).

Os animais invertebrados, como a mosca da fruta *Drosophila melanogaster* tem sido um modelo de estudo eficiente e amplamente

explorados como uma poderosa ferramenta genética para a compreensão de problemas biológicos complexos, muitas propriedades de base fisiológica e neurológica são conservadas entre mamíferos e *Drosophila melanogaster*, sendo que esse modelo animal apresenta quase 75% dos genes causadores de doenças humanas e possuem homólogos funcionais na mosca (PANDEY & NICHOLS, 2011; ARAUJO et al., 2015).

Com base nos efeitos antioxidantes conhecidos do selênio, que se encontra no presente composto, este trabalho objetivou avaliar os efeitos do composto selenonucleosídeo derivado de zidovudina através de ensaios *in vivo* e *ex vivo*, em *Drosophila melanogaster*, a fim de verificar os possíveis efeitos farmacológicos ou toxicológicos do composto, bem como saber a concentração em que o composto apresenta atividade biológica.

2. METODOLOGIA

2.1. Meio de cultura e estoque de *Drosophila melanogaster*

A espécie *Drosophila melanogaster* (estirpe Harwich) foi obtida do Centro Nacional (Bowling Green, Ohio, EUA). As moscas foram mantidas em estufa BOD com temperatura controlada a 25 °C e 60% de umidade, submetidas a 12 horas de ciclo claro/escuro e alimentadas com dieta padrão, composta por farinha de milho média, farinha de milho grossa, sal, açúcar, leite em pó e nipagin para o controle fúngico.

2.2. Protocolo experimental

As *Drosophila melanogaster* (ambos os sexos) com um máximo de 3 dias de idade foram divididas em cinco grupos de 30 moscas cada um: (1) controle, com sacarose 1% + dimetilsulfóxido (DMSO), (2) 1 µM, (3) 10 µM, (4) 25 µM e (5) 50 µM do composto selenonucleosídeo (Se), o controle foi diluído primeiramente em DMSO e depois foi adicionada a solução aquosa de sacarose 1% para servir de alimento para as moscas. A solução resultante foi adicionada em papel filtro dentro de frasco, um para cada um dos respectivos grupos e observados durante 48 horas.

Os papéis filtro com solução de alimento e composto foram substituídos por novos de mesma concentração após 24 horas de tratamento, nesse tempo também foram realizados os testes comportamentais de campo aberto e geotaxia negativa. Ao final das 48 horas de tratamento foi repetida a avaliação comportamental e posteriormente as moscas foram eutanasiadas por anestesia em gelo, homogeneizadas e centrifugadas para produção das amostras e preparação das análises bioquímicas (figura 3).

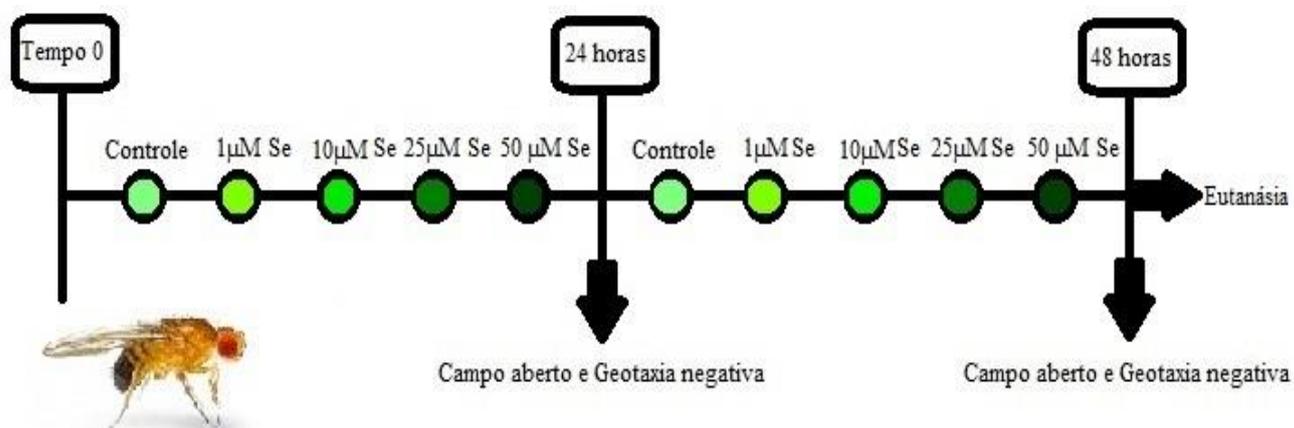


Figura 3- Desenho experimental (Própria autora).

2.3. Ensaios *in vivo*

2.3.1. Sobrevivência

A taxa de sobrevivência das *Drosophila melanogaster* foi avaliada por uma contagem diária do número de moscas vivas em relação ao número total de moscas até ao final do período experimental (48 horas). Aproximadamente 90 moscas por grupo foram incluídas nos dados de sobrevivência e o número total de moscas representou a soma dos três experimentos independentes.

2.3.2. Teste campo aberto

Para avaliar o comportamento e a atividade exploratória de cada mosca, foram utilizados um total de dez moscas em cada grupo. Cada mosca foi

individualmente submetida a uma placa de Petri dividida com quadrados de um centímetro por um, conforme descrito por Hirth (2010), onde a atividade de movimento da mosca foi registrada e avaliada durante 60 segundos para cada mosca. O número total de explorações foi calculado de acordo com o número de quadrados explorados por cada mosca.

2.3.3. Teste geotaxia negativa

O ensaio de geotaxia negativa das moscas seguiu a descrição realizada no trabalho de Jimenez Del-Rio et al. (2010), registrando o tempo gastopor cada mosca para atingir uma altura de 8 cm, medido a partir do fundo de um tubo de ensaiocom um diâmetro de 1,5 cm. O teste foi repetido cinco vezes para cada mosca e dez moscas foram separadas a partir de cada grupo a ser avaliada, os dados foram analisados de acordo com o tempo médio de cada mosca, e obtida a média das moscas de cada grupo.

2.4. Ensaaios *ex vivo*

2.4.1. Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica (LPO) foi medida pelo ensaio de TBARS (OHKAWA et al., 1979). Dez moscas em cada grupo foram homogeneizadas em 500 µl de tampão HEPES 20 mM, pH 7,0 e centrifugadas a 1000 rpm durante 10 min a 4 °C. O sobrenadante foi removido e após foi adicionado o ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,8% pH 3,2), o ácido acético (20%, pH 3,5) e o sulfato de sódio (SDS) (8%). Posteriormente, a mistura foi incubada por duas horas a 95 °C. Após descanso de 10 minutos a absorbância foi avaliada a 532 nm em leitor de micro placa e os resultados foram expressos em nM de MDA/mg/proteína no homogenato das moscas.

2.4.2. Atividade das enzimas antioxidantes

2.4.2.1. Determinação da atividade da enzima catalase (CAT)

Dez moscas de cada grupo foram homogeneizadas em 500 µl de tampão HEPES 20 mM, pH 7,0 e centrifugadas a 14000 rpm durante 30 min a 4 °C. Posteriormente, foi preparado uma solução tampão contendo (KPi 0,25 M/EDTA (2,5 mM pH 7,0), 30% de H₂O₂, e Triton X-100 a água), Esta solução foi adicionada ao sobrenadante e as leituras das amostras foram a 240 nm monitoradas durante 2 min. A atividade da catalase foi medida seguindo o método proposto por (AEBI, 1984) e expressas em mU/mg/proteína no homogenato das moscas.

2.4.2.2. Determinação da atividade da superóxido-dismutase (SOD)

Dez moscas de cada grupo foram homogeneizadas em 500 µl de tampão HEPES 20 mM, pH 7,0e centrifugadas a 14000 rpm durante 30 min a 4 °C. Posteriormente, uma solução tampão contendo (KPi 0,25 M/EDTA (0,1 mM pH 10.0)) e N, N, N, N-tetrametil etilenodiamina (TEMED) foi preparada, no momento da leitura das amostras foi adicionado ao sobrenadante uma solução contendo quercetina(0,15%) e esta leitura foi monitorada durante 2 min a 406 nm. A atividade da SOD foi medida pela monitorização de inibição da auto oxidação de quercetina, segundo (KOSTYUK e POTAPOVICH, 1989). Os valores foram expressos em termos da quantidade de proteína necessária para inibir 50% de oxidação da quercetina em mU/mg/proteína no homogenato das moscas.

2.4.2.3. Atividade da acetilcolinesterase (AchE)

Dez moscas de cada grupo foram homogeneizadas em 500 µl de tampão HEPES 20 mM, pH 7,0e centrifugadas a 1000 rpm durante 5 min a 4 °C. A mesma reação foi preparada contendo (tampão KPi 0,25 M (pH 8,0), 5,5 ácido ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB 5 mM) e posteriormente foi adicionado a amostra do sobrenadante a solução de acetilcolina 7,25 mM (2,1 mg/ml), logo após a leitura foi monitorada durante 2 min a 412 nm. As atividades enzimáticas foram expressas em nmol de proteína/mg/min de substrato hidrolisado. A atividade da acetilcolinesterase foi determinada de acordo com o método de ELLMANN (1961).

2.4.3. Determinação de proteína

A concentração de proteína foi quantificada pelo método de BRADFORD (1976) utilizando albumina de soro bovino como padrão.

2.4.4. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada pela análise de variância ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Newman-Keuls. Foram consideradas significativas as diferenças entre os grupos quando $p < 0,05$, utilizando o programa GraphPad Prism5.

3. RESULTADOS

3.1. Sobrevivência

A exposição das moscas ao composto Se nas concentrações de 1 μM , 10 μM , 25 μM e 50 μM , não apresentou diferença significativa em relação a sobrevivência, quando comparadas ao grupo controle conforme demonstrado na figura 4. Comparando as concentrações, todas demonstraram aproximadamente o mesmo índice de sobrevivência após às 24 hs e 48 hs de experimento.

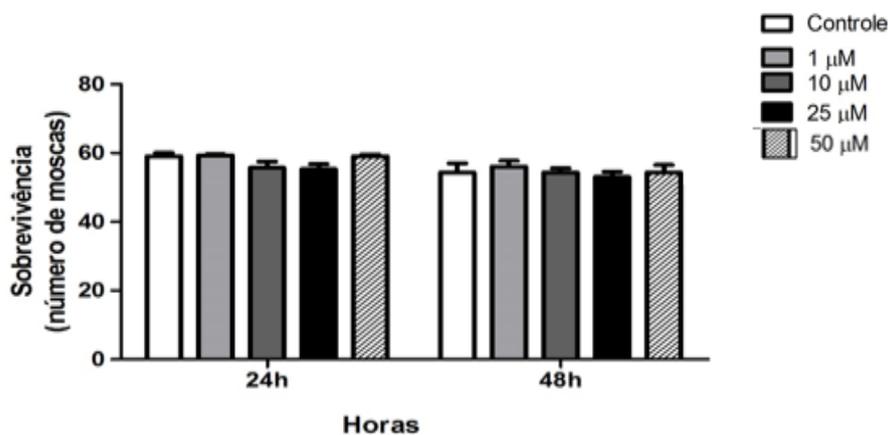


Figura 4 - Sobrevivência após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto selenonucleosídeo. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 30 moscas, três tratamentos foram realizados). A significância foi determinada pela análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls.

3.2. Teste de campo aberto

De acordo com a figura 5, que representa a mobilidade das moscas através do teste locomotor de campo aberto, nenhuma concentração do composto Se apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparados ao grupo controle. Logo, constata-se que o composto não causou nenhuma alteração na mobilidade das moscas tratadas.

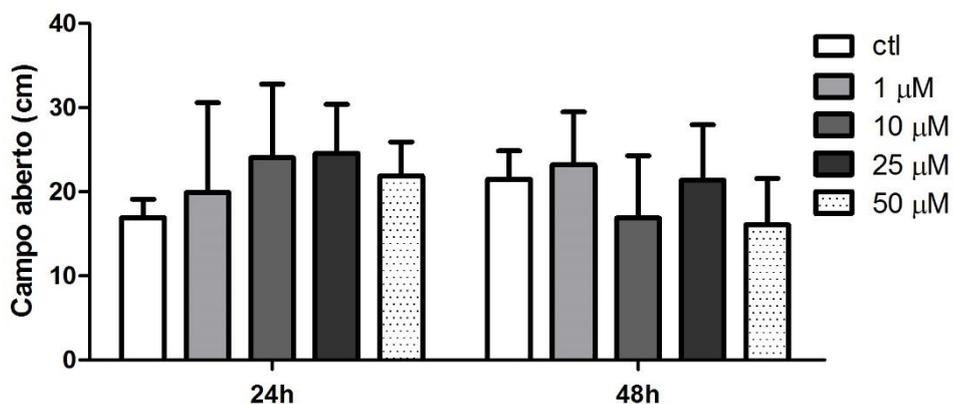


Figura 5. Teste de campo aberto realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto selenonucleosídeo. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 30 moscas, três tratamentos foram realizados). A significância foi determinada pela análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls.

3.3. Teste de geotaxia negativa

A avaliação do comportamento pelo teste de escalada geotaxia negativa para as moscas expostas ao composto Se (figura 6), mostrou que não houve diferença significativa entre os grupos. Foram observados valores muito semelhantes ao grupo controle. O teste demonstra que o composto Se não

afetou o tempo de escalada das moscas, mantendo-se estáveis até o fim do tratamento.

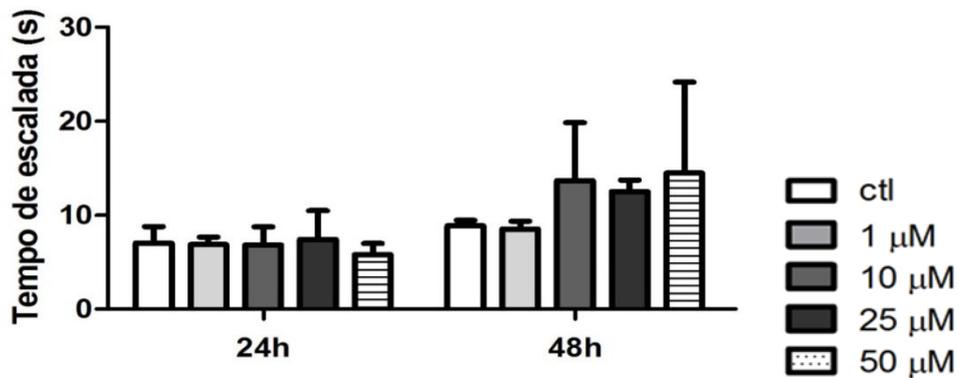


Figura 6 - Teste de geotaxia negativa realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto selenonucleosídeo. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 30 moscas, três tratamentos foram realizados). A significância foi determinada pela análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls.

3.4. Peroxidação lipídica

Os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), biomarcador da peroxidação lipídica não apresentaram diferenças significativas na análise do composto Se em *Drosophila melanogaster* (figura 7).

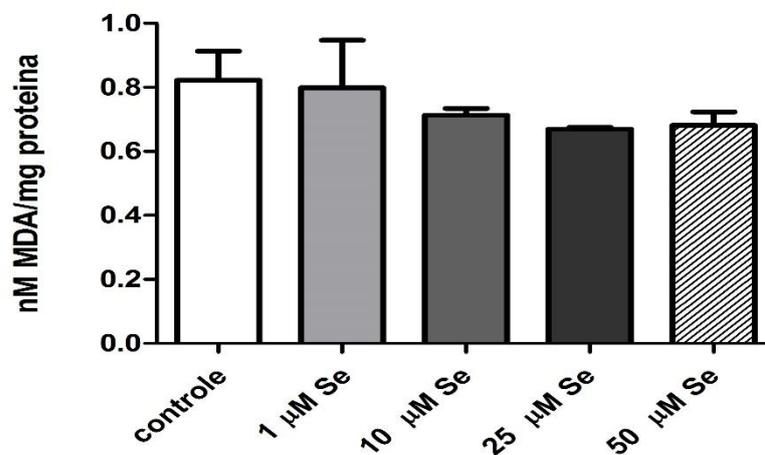


Figura 7 - Efeito do composto selenonucleosídeo nos níveis de peroxidação lipídica (LPO) no homogenato de *Drosophila melanogaster*. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 30 moscas, três tratamentos foram realizados). A significância foi determinada pela análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls.

3.5. Atividade das enzimas antioxidantes

A atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) no homogenato de *Drosophila melanogaster* após tratamento com composto Se em diferentes concentrações, não apresentou diferença significativa quando comparados ao grupo de controle. Conforme demonstrado na figura 8 A, o grupo de moscas que recebeu a concentração de 1 μ M do composto Se, demonstrou uma atividade da enzima AChE acima de 2 μ mol/min/mg de proteína do substrato hidrolisado, índice este mais elevado que os demais grupos estudados.

Quanto á atividade enzimática da catalase (CAT), também não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados com o composto Se em *Drosophila melanogaster*, conforme demonstrado na figura 8 C.

De acordo com a figura 8 B, que representa a atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) no tratamento de *Drosophila melanogaster* expostas ao composto Se, os grupos tratados não apresentaram diferenças significativas na SOD quando comparados ao grupo de controle.

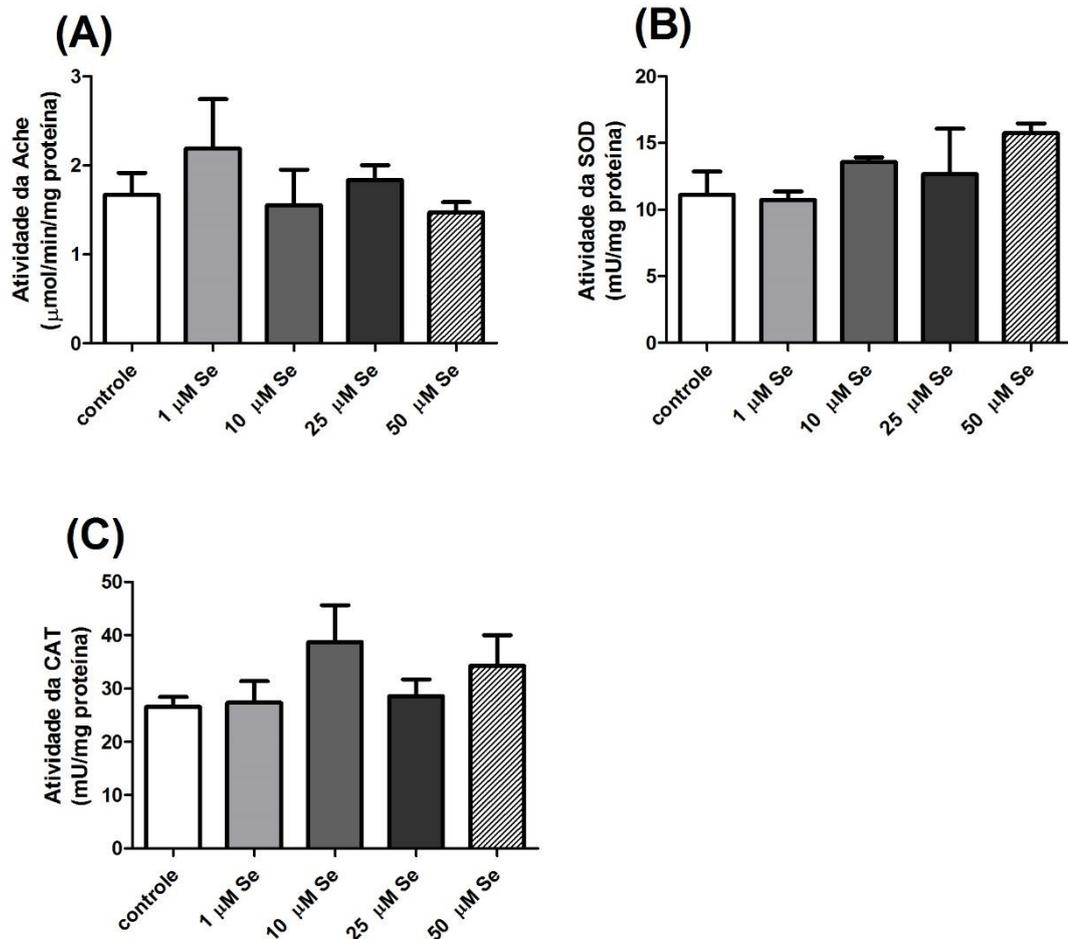


Figura 8. Efeito do composto selenonucleosídeo na atividade da Acetilcolinesterase (AChE) (figura 4 A), na superóxido dismutase (SOD) (figura 4 B) e na atividade da catalase (CAT) (figura 4 C) no homogenato de *Drosophila melanogaster*. Os valores são média \pm desvio padrão ($n = 30$ moscas, três tratamentos foram realizados). A significância foi determinada pela análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls.

4. Discussão

Neste estudo, foram avaliadas alterações comportamentais e bioquímicas em *Drosophila melanogaster* expostas ao composto Se em diferentes concentrações. O composto parte de um nucleosídeo derivado de zidovudina acrescido de uma molécula de selênio (DE SOUZA et al., 2015).

A exposição das moscas ao composto Se nas concentrações de 1 μM , 10 μM , 25 μM e 50 μM , não apresentou diferença significativa em relação a sobrevivência, quando comparadas ao grupo controle. Assim, a ausência de diferença estatisticamente significativa no número acumulado de moscas vivas após o tratamento com o composto Se no presente estudo, possivelmente sugere sua benéfica segurança nestas concentrações para o modelo tratado.

Os testes de campo aberto e geotaxia negativa são realizados com o intuito de verificar os efeitos do composto na integridade física das moscas, presumidas a partir de seu comportamento locomotor. Prut e Belzung (2003) e Fedele et. al., (2014) ressaltam que os testes não apenas mensuram os padrões de ansiedade como também de sedação ou atividade causados por drogas em cobaias. Desta forma, a atividade das moscas nos testes comportamentais permitiu inferir que o composto testado não apresenta toxicidade, mantendo a integridade física das moscas.

A atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) após tratamento com composto Se em diferentes concentrações, não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo de controle. É bem sabido que a AChE hidrolisa a acetilcolina, um neurotransmissor que desempenha um papel fundamental na regulação da função motora e de locomoção (DAY, et. al., 1991), resultado este que reafirma os achados nos testes comportamentais do presente estudo.

Níveis significativamente baixos de selênio têm sido encontrados em pacientes com câncer quando comparados aos grupos saudáveis, esta diminuição pode causar a intensificação da peroxidação lipídica e aumento de produtos finais da peroxidação como o malondialdeído (MDA), o qual foi encontrado em níveis aumentados em tecidos carcinogênicos (ALMONDES et. al., 2010). No presente estudo com o composto selenonucleosídeo, os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) não apresentaram diferenças significativas na análise com *Drosophila melanogaster*, mantendo-se estáveis após o término de tratamento. As substâncias reativas ao TBARS são bons indicadores de estresse oxidativo nas células e tecidos, podendo demonstrar efeitos farmacológicos importantes relacionados a uma inibição da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ADEDARA, et. al., 2015). Souza, 2012, realizou uma análise de toxicidade de determinados análogos do AZT

com selênio, através de testes *in vitro*, verificados por marcadores de estresse oxidativo e verificou a inibição significativa na produção de espécies reativas (TBARS e malondialdeído) em homogenato do cérebro de ratos.

Os compostos organocalcogênicos tem surgido como uma alternativa para o tratamento do câncer, agindo principalmente através de enzimas de detoxificação das espécies reativas de oxigênio (ROS) (STEIBRENNER, 2009).. A catalase e a SOD são enzimas antioxidantes que protegem as macromoléculas celulares neutralizando peróxidos intracelulares e oxidantes eletrofílicos, respectivamente. A redução destas atividades de enzimas antioxidantes poderia aumentar os níveis ROS e, conseqüentemente, levar à morte celular (ABOLAJI, et. al., 2014). No presente estudo a atividade enzimática da catalase (CAT) e da Superóxido Dismutase (SOD) avaliadas no presente estudo, também não apresentaram diferenças significativas entre os grupos tratados com o composto selenonucleosídeo em *Drosophila melanogaster*.

Considerando que tanto a SOD como a CAT são cruciais na defesa celular contra o estresse oxidativo (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007), pode-se dizer que mecanismos de regulação possam manter níveis adequados dessas proteínas, porém são necessários mais estudos para elucidar tais parâmetros. Apesar de alguns estudos contraditórios, a conclusão geral é que células tumorais são normalmente caracterizadas pela redução na atividade da SOD, a origem dessa diminuição ainda é desconhecida (DENISOV et. al., 2005).

5. CONCLUSÃO

Com o estudo pode-se concluir que o composto selenonucleosídeo não apresentou efeitos tóxicos nos parâmetros avaliados, sendo seguro para o uso em estudos futuros neste modelo.

REFERÊNCIAS

ABOLAJI, O. A.; KAMDEM, J. P.; LUGOKENSKI, T. H.; NASCIMENTO, T. K.; WACZUK, E. P.; FAROMBI, E. O.; LORETO, E. L.; ROCHA, J. B. T. Involvement of oxidatives tressin 4-vinylcyclohexene - induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. **Free RadicBiol Med** 71:99–108, 2014.

ADEDARA, I. A.; KLIMACZEWSKI, C. V.; BARBOSA, N. B.; FAROMBI, E. O.; SOUZA, D. O.; ROCHA, J. B. Influence of diphenyl diselenide on chlorpyrifos-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 32, 52-59. 2015.

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol.** 105, p.121–126,1984.

ALMONDES, K. G. S., LEAL, G. S. V., COZZOLINO, S. M. F., PHILIPPI, S. T., RONDÓ, P. H. C. O papel das selenoproteínas no câncer. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 56, p.484-488, 2010.

ARAUJO, S. M et al. Effectiveness of γ -oryzanol in reducing neuromotor deficits, dopamine depletion and oxidative stress in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease induced by rotenone. **Neurotoxicology**, v. 51, p. 96-105, 2015.

BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p.113-123, ago. 2006.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, ago. 1999.

BRADFORD, M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**v.72, p.248–254,1976.

DAY, J.; DAMSMA, G.; FIBIGER, H. C. Cholinergic activity in the rat hippocampus, cortex and striatum correlates with locomotor activity: an in vivo microdialysis study. **Pharmacol Biochem Behav.** 38:723–729, 1991.

DE CLERCQ, E. This is a state-of-the-art review of the development of antiviral compounds, written by one of the pioneers in the field. A 40-year journey in search of selective antiviral chemotherapy. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 51, p.1–24, 2011.

DE SOUZA, Diego et al. New organochalcogen multitarget drug: Synthesis and antioxidant and antitumoral activities of chalcogenozidovudine derivatives. **Journal of medicinal chemistry**, v.58, n.8, p.3329-3339, 2015.

E. DENISOV, I AFANASEV. Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. **Taylor & Francis Group**, Boca Raton, 2005.

ELLMANN, G. E., COURTNEY, K. D., ANDERSON, V., A new calorimetric determination of acetyl cholinesterase activity. **Biochem. Pharmacol.** V.7, p.88–95, 1961.

FEDELE, G., GREEN, E. W., ROSATO, E., KYRIACOU, C. P. An electromagnetic field disrupts negative geotaxis in *Drosophila* via a CRY-dependent pathway. **Nature communications**, V.5, 2014.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. **Rev. Proc. Quim.**, v.2, n.4, p.24-26, 2008.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. Free radicals in biology and medicine, Vol. 1. New York: Oxford University Press, 2007.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. **CNS Neurol. Disord. Drug Targets** v.9, n. 4, p.504–523. Ago. 2010.

HOLY, A. Antiviral acyclic nucleoside phosphonates structure activity studies. **Antiviral Res.** 71, p.248–253, 2006.

JIMENEZ DEL-RIO, M.; MARTINEZ, C.; PARDO, C.V. The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in *Drosophila melanogaster* exposed to iron and paraquat. **Neurochem. Res.** v35, p.227–238. Ago. 2010.

JORDHEIM, L. P.; DURANTELL, D.; ZOULIM, F.; DUMONET, C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. **Nat. Rev. Drug Discovery.** v.12, p.447–464, 2013.

KOSTYUK, V. A., POTAPOVICH, A. I. Superoxide driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase. **Biochem.Int.** v.19,p.117–1124, 1989.

NAVARRO, A. M.; LOPÉZ, M. M. C. Essentiality of selenium in the human body: relation ship with different diseases. **Sci. Environ.** 249, p.347-371, 2000.

OHAKAWA, H., OHISHI, U., YAGI, K. Assay of lipid peroxidation in rat tissues by thiobarbituric reaction. **Anal. Biochem.**95, p.145–149, 1979.

PANDEY, U.; NICHOLS, CHARLES, D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. **Pharmacological reviews**, v.63, n.2, p.411-436, 2011.

PRUT, L., BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European journal of pharmacology**, 463(1), 3-33, 2003.

SILVA, J. F. **Avaliação da capacidade antioxidante do *Vaccinium myrtillus* L, (mirtilo) e comparação com as espécies *Malpighia emarginata* (acerola) e *Vitis vinifera* L (uva)**. Itaqui, RS: Universidade Federal do Pampa, 2016. Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para a obtenção de grau de Bacharel em Nutrição. Universidade Federal do Pampa, 2016.

SILVA, P. Farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 7.ed, p.1081. 2006.

SOUZA, J.; STORPIRTIS, S. Atividade anti-retroviral e propriedades farmacocinéticas da associação entre lamivudina e zidovudina. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v.40, n.1, p. 9-19, Mar. 2004.

STEIBRENNER, H., SIES, H. Protection against reactive oxygen species by seleno proteins. **Biochim. Biophys. Acta**, 1790, 1478-1485, 2009.

SZABADOS, E.; FISCHER, G. M.; TOTH, K.; CSETE, B.; NEMETI, B.; TROMBITAS, K.; HABON, T.; ENDREI, D.; SUMEGI, B. Role of reactive oxygen species and poly-ADP-ribose polymerase in the development of AZT-induced cardiomyopathy in rat. **Free Radical Biol. Med.**, v.26, p.309–317.1999.