

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Atividade protetora da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.)  
contra a ação genotóxica da Doxorubicina (DXR), avaliada por  
meio do Teste para Detecção de Mutação e Recombinação Somática,  
em asas de *Drosophila melanogaster***

**Lidiane Gonçalves Dutra Diniz**

**Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade  
Federal de Uberlândia para a obtenção do  
grau de Bacharel em Ciências Biológicas**

**Uberlândia - MG  
Dezembro - 2004**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Atividade protetora da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.)  
contra a ação genotóxica da Doxorubicina (DXR), avaliada por  
meio do Teste para Detecção de Mutação e Recombinação Somática,  
em asas de *Drosophila melanogaster***

**Orientada: Lidiane Gonçalves Dutra Diniz**

**Orientador: Prof. Dr. Júlio César Nepomuceno**

**Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade  
Federal de Uberlândia para a obtenção do  
grau de Bacharel em Ciências Biológicas**

**Uberlândia - MG  
Dezembro - 2004**

**Universidade Federal de Uberlândia**  
Instituto de Biologia  
Curso de Ciências Biológicas

**Atividade protetora da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.)  
contra a ação genotóxica da Doxorrubicina (DXR), avaliada por  
meio do Teste para Detecção de Mutação e Recombinação Somática,  
em asas de *Drosophila melanogaster***

Lidiane Gonçalves Dutra Diniz

Aprovado pela Banca Examinadora em 01/12/2004 Nota: 950

---

Júlio César Nepomuceno  
Orientador Membro Nato da Banca Examinadora

---

Vânia Maria Sartini Dutra Pimenta  
2º Membro da Banca Examinadora

---

Wender Ferreira Costa  
3º Membro da Banca Examinadora

Uberlândia, 01 de Dezembro de 2004.

4

**ATIVIDADE PROTETORA DA PIMENTA MALAGUETA (*Capsicum frutescens* L.) CONTRA A AÇÃO GENOTÓXICA DA DOXORRUBICINA (DXR), AVALIADA POR MEIO DO TESTE PARA DETECÇÃO DE MUTAÇÃO E RECOMBINAÇÃO SOMÁTICA, EM ASAS DE *Drosophila melanogaster***

**RESUMO:** Os frutos da *Capsicum frutescens* L. , são muito utilizados como condimento e em preparações medicinais. Considerando seu alto consumo, este trabalho teve como objetivo avaliar os possíveis efeitos genotóxicos e/ou antígenotóxicos do extrato aquoso dos frutos de *Capsicum frutescens*. Para tanto, utilizamos o teste SMART (GRAF, 1984) larvas de 3º estágio foram tratadas com extratos aquosos dos frutos, nas seguintes concentrações: 0,25%, 0,50% e 1,0%. Para verificar a atividade protetora, as mesmas concentrações dos extratos foram associadas ao agente genotóxico Doxorubicina (DXR 0,125mg/mL). Os resultados demonstraram que nos descendentes de ambos cruzamentos, tratados com pimenta-malagueta (0,25%, 0,50% e 1,0%) não houveram aumentos, estatisticamente significativos, nas freqüências de manchas mutantes. Nas associações, houveram reduções significativas nas freqüências de manchas nas concentrações de 0,25 % e 0,50 % de pimenta-malagueta nos descendentes do cruzamento padrão e nas concentrações 0,5 e 1,0% nos descendentes do cruzamento de alta bioativação. Sendo assim, a pimenta malagueta, nestas condições experimentais, não é genotóxica e apresenta atividade protetora contra a ação genotóxica da DXR.

---

**UNITERMOS:** *Capsicum frutescens*, SMART, *Drosophila melanogaster*.

## INTRODUÇÃO

Recentemente, maior atenção tem sido dada na exploração de compostos encontrados nos alimentos com potencial antimutagênico e anticarcinogênico. Estes compostos são encontrados em quase todas as categorias de alimentos, sendo vegetais sua principal fonte (STAVRIC, 1994).

A *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) é uma espécie muito frequente nos climas quentes. Os frutos são pequenos, oblongos ou quase lineares, algumas vezes arqueados, verdes ou amarelos na fase de desenvolvimento e normalmente vermelhos quando maduros, contendo no seu interior elevado número de sementes. Os frutos são todos picantes. Embora seja originária da região tropical, a referida espécie têm elevada capacidade de adaptação a diversos tipos de clima, assim a cultura se estendeu com certa facilidade às zonas temperadas (FERRÃO, 1993).

A cor vermelha viva dos frutos é devida à alta porcentagem de caroteno e de capsaicina no fruto maduro. O conteúdo de vitaminas A e C nas pimentas é, também, bastante elevado (GIACOMETTI, 1989). Pimentas são boas fontes de carotenóides, pró-vitamina A,  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina (MINGUEZ-MOSQUERA e HORNERO-MENDEZ, 1994; HOWARD e HERNANDEZ-BRENES, 1998; MARKUS et al., 1999, apud HOWARD et al., 2000, p. 1713).

De acordo com Howard et al. (2000), pimentas frescas apresentam ainda em sua lista de componentes, compostos fenólicos ácidos e neutros, que são importantes antioxidantes presentes em uma ampla variedade de respostas de defesa de plantas.

‘A pimenta malagueta é muito utilizada como condimento em inúmeros países, além de ser usada em uma série de preparações medicinais como as relatadas por Cichewicz e Thorpe (1996). É utilizada no tratamento de uma variedade de enfermidades incluindo problemas respiratórios, doença intestinal, dores de ouvido e ferimentos. As pimentas *C. frutescens* também são utilizadas no tratamento de febre tifóide intermitente, cólicas, dores de dentes, dispepsia, cólera, reumatismo e artrites (MARAMBA, 1982 apud VILLASEÑOR e OCAMPO, 1994, p. 151).

A capsaicina (8-metil-*N*-vanilil-nonenamida) é bem conhecida como princípio ativo de *Capsicum* (pimentas vermelhas), uma substância que provoca uma sensação picante em mucosas (JANCSÓ et al., 1977). Muitas ações farmacológicas da capsaicina foram demonstradas, incluindo a termorregulação e dessensibilização da dor. De fato, a capsaicina é o ingrediente ativo em muitos analgésicos de uso tópico, como os cremes Zostrix, Zostrix-HP e Axsain (MARTINDALE, 1996 apud MARQUES et al., 2002, p. 39; CORDELL e ARAUJO, 1993). Outro componente da pimenta malagueta é o ácido ascórbico (vitamina C), que possui ação inibitória de um processo comprovadamente carcinogênico denominado nitrosação (MIRVISH, 1994), além de possuir comprovada ação antioxidante (OLVERA et al., 1995).

Uma pesquisa realizada no México mostrou que o consumo de pimenta malagueta (*C. frutescens*) é um importante fator de risco para o câncer gástrico; consumidores têm um risco 5,5 vezes maior de câncer gástrico que não consumidores. Grandes consumidores têm um risco 17 vezes maior (LÓPEZ-CARRILLO et al., 1994). Embora um estudo realizado na Itália, tenha revelado um efeito protetor sobre o risco relativo de câncer gástrico (BUIATTI et al., 1991). Outro estudo demonstrou claramente que a capsaicina é um composto genotóxico para linfócitos humanos. Aumentos significativos de células com DNA danificado, induzidos

por diferentes concentrações de capsaicina, foram observados tanto em micronúcleos quanto em troca entre cromátides-irmãs (MARQUES et al., 2002).

Proudlock et al. (2004) mostraram que a capsaicina pura (trans-capsaicina) não foi genotóxica em diferentes testes de genotoxicidade. Para o Teste de Ames a trans-capsaicina pura não teve ação genotóxica para *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*. A trans-capsaicina não induziu um aumento nas freqüências de micronúcleos em medula óssea de camundongo (dose máxima tolerada – 800mg/Kg/dia). Finalmente, a trans-capsaicina não induziu aberrações cromossômicas ou estruturais em linfócitos humanos.

O teste para detecção de mutação e recombinação somática (SMART), desenvolvido por Graf et al. (1984), vem comprovando sua eficácia na identificação e avaliação das atividades genotóxicas e antígenotóxicas de agentes químicos e físicos, a exemplo de Ramirez-Victoria et al. (2001) que verificou a antimutagenicidade de uma variedade de pimentas verdes (*Capsicum* spp.) e sua possível interferência com o processo de nitrosação.

O SMART baseia-se no fato que, durante o início do desenvolvimento embrionário da *D. melanogaster*, grupos de células (discos imaginais) proliferam-se mitoticamente, durante o desenvolvimento larval, até se diferenciarem, durante a metamorfose, em estruturas do corpo da mosca adulta (olhos, asas, etc.). Caso ocorra uma alteração genética, em uma das células do disco imaginal, tal alteração estará presente em todas as células descendentes, e formará um clone de células mutantes. Assim sendo, as células mutantes serão detectadas como uma mancha, de pêlos mutantes, na asa da mosca adulta (GUZMÁN-RINCÓN e GRAF, 1995).

Tendo em vista o alto consumo e as contradições entre autores quanto à ação/efeito da *C. frutescens*, em organismos vivos, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação dos possíveis efeitos genotóxicos e/ou antígenotóxicos, por meio do SMART, em células das asas de *Drosophila melanogaster*. Na avaliação da atividade antígenotóxica, o extrato aquoso de *C. frutescens* com provável ação antioxidante devido à presença de vários antioxidantes

(vitamina C, capsaicina, carotenóides entre outros.) foi associado a Doxorubicina (DXR), um agente antineoplásico gerador de radicais livres.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

No teste para detecção de mutação e recombinação somática (SMART) as larvas obtidas dos cruzamentos Padrão - ST e de Alta Capacidade de Bioativação – HB foram submetidas às concentrações de 0,25, 0,50 e 1,00% do extrato aquoso dos frutos de *C. frutescens*. Como controle positivo e negativo foram utilizados Doxorubicina (0,125 mg/mL) e água destilada, respectivamente.

### **Extrato de Pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*)**

Os frutos de *C. frutescens* foram adquiridos junto ao Centro de Abastecimento de Minas Gerais S/A (CEASA), sito a rod. BR - 050 Km 76, s/n da cidade de Uberlândia - MG, no Box de número 38, competente à Empresa Comercial Terra Verde LTDA.

A preparação do extrato de pimenta malagueta foi realizada por meio da maceração dos frutos, limpos e secos, obtendo-se posteriormente diluições dos mesmos em água destilada às concentrações de 0,25%; 0,50% e 1,00%.

### **Agente Genotóxico**

Rubidox<sup>®</sup> (cloridrato de doxorubicina) é um antibiótico antineoplásico do grupo das antraciclina e é isolado do *Streptomyces peucetius*. Sua ação antineoplásica é devida a sua



capacidade de bloquear a síntese dos ácidos nucléicos, inibindo tanto a DNA-nucleotidiltransferase como a RNA-nucleotidiltransferase, através da intercalação entre os pares de bases do DNA e RNA (BULA RUBIDOX<sup>®</sup>).

O cloridrato de doxorubicina (DXR) (CAS 23214-92-8), nome comercial Rubidox<sup>®</sup> distribuído pelo Laboratório Químico Farmacêutico Bergamo, apresentado sob a forma de pó liofilizado, foi dissolvido em água destilada estéril, imediatamente antes do uso.

### **Linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster***

Os estoques de diferentes linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster*, utilizados no presente estudo, foram gentilmente cedidos pelo Dr. Ulrich Graf, do *Institute of Animal Science and University of Zurich, CH 8603 de Schwerzenbach (Switzerland)*, sendo mantidos no Laboratório de Citogenética e Mutagênese da Universidade Federal de Uberlândia, no Estado de Minas Gerais, em condições de temperatura e umidade controladas. Os estoques são mantidos em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura (820mL de água, 25g de fermento biológico, 11g de ágar, 156g de banana, 1g de nipagin.).

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

- *multiple wing hairs (mwh)* com a constituição genética *y; mwh jv*.
- *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>*.
- *ORR; flare-3 (ORR; flr<sup>3</sup>)* com constituição genética *ORR; 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>*. (GRAF, 1984).

### **Teste para detecção de mutação e recombinação somática em células somáticas de diferentes linhagens de *D. melanogaster***

Para o SMART foram realizados os seguintes cruzamentos entre as linhagens mutantes: Padrão (ST - “Standard Cross”) proposto por Graf et al. (1989) ocorre entre fêmeas virgens *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>* e machos *mwh/mwh*; e de Alta Bioativação (HB - “High Bioactivation Cross”) proposto por GRAF e VAN SCHAİK, (1992), ocorrem entre fêmeas virgens *ORR/ORR; 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>* e machos *mwh/mwh*. De acordo com Frölich e Würigler (1989) a linhagem ORR possui os cromossomos 1 e 2 provenientes da linhagem *Oregon R (R)*, resistente ao DDT, contendo genes responsáveis por alto nível constitutivo de enzimas de metabolização do tipo citocromo P450. Este confere ao SMART de asa a capacidade de ativar promutagênicos dependentes de ativação via citocromo P450.

Os ovos obtidos dos cruzamentos ST e HB foram coletados durante um período de 8 horas, em frascos contendo uma base sólida de ágar (4% de ágar em água) e uma camada de fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) suplementado com açúcar. Após 72 +/- 4 horas, as larvas foram lavadas em água corrente e devidamente coletadas com o auxílio de uma peneira de malha fina, sendo transferidas para frascos de vidro contendo 1,5g de meio de cultura alternativo (purê de batata instantâneo Yoki<sup>®</sup>) e 5mL de solução aquosa do extrato dos frutos de *Capsicum frutescens* nas concentrações de 0,25, 0,50 e 1,00%. Para verificar a ação antígenotóxica essas mesmas concentrações foram associadas a Doxorrubicina (DXR 0,125mg/mL). O controle positivo (DXR 0,125mg/mL) e o controle negativo (água destilada) foram utilizados em ambos os cruzamentos. Os tratamentos crônicos (48h) foram aplicados nas larvas até à transformação em pupa.

Os descendentes obtidos de *D. melanogaster*, Trans-heterozigotos Marcados - MH (*mwh + / + flr<sup>3</sup>*) e Heterozigotos Balanceados - BH (*mwh / TM3, Bd<sup>S</sup>*), foram fixados em etanol 70%, sendo que apenas as asas dos descendentes Trans-heterozigotos Marcados foram submetidos à análise microscópicas.

## **Análise das asas de *Drosophila melanogaster***

Com o auxílio de um microscópio estereoscópico, as asas das moscas foram cuidadosamente removidas com o auxílio de pinças entomológicas e colocadas de forma estendida na lâmina, utilizando-se solução de Faure (30g de goma arábica, 20 mL de glicerol, 50g de hidrato cloral e 50 mL de água) para uma melhor fixação das asas. Em seguida, as lâminas foram colocadas em estufa por 24 horas. Subseqüentemente, foi realizada a finalização da montagem das lâminas com lamínula em placa aquecedora, a uma temperatura de 40°C, por um período de 72 horas. A análise das asas foi realizada com auxílio de microscópio óptico de luz, em um aumento de 400x.

## **Análise Estatística**

Ao final da análise microscópica, foram comparadas as frequências de manchas encontradas nas moscas tratadas com o extrato aquoso dos frutos de *C. frutescens*, nas diferentes concentrações (0,25, 0,50 e 1,00%), com as encontradas no controle negativo.

A análise estatística dos experimentos realizados, para a verificação da possível ação genotóxica do extrato aquoso de *C. frutescens*, foi realizada por meio do teste  $X^2$  para proporções descrito por Frei e Würgler (1988). Para análise estatística da possível antigenotoxicidade, as frequências de cada tipo de mancha por mosca foram comparadas aos pares (cada tratamento associado foi comparado ao controle positivo), pelo Mann-Whitney Rank Sum Test (FREI e WÜRGLER, 1995).

## RESULTADOS

A **Tabela 1** reúne os resultados referentes às frequências de manchas mutantes por indivíduo dos descendentes MH dos cruzamentos Padrão (ST) e de Alta Bioativação (HB) respectivamente, tratados com água destilada estéril (controle negativo) e com as diferentes concentrações do extrato aquoso dos frutos de *C. frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00%). São apresentadas as frequências das seguintes categorias de manchas: manchas simples pequenas (MSP), manchas simples grandes (MSG) e manchas gêmeas (MG), assim como a frequência total de manchas (TM). Os resultados obtidos demonstraram que nos descendentes de ambos os cruzamentos (ST e HB), tratados com as diferentes concentrações de *C. frutescens*, não ocorreram aumentos, estatisticamente significativos, nas frequências de manchas mutantes, indicando uma ausência na atividade genotóxica.

A **Figura 1** apresenta o número total de manchas por mosca, dos descendentes MH, de ambos os cruzamentos (ST e HB), tratados com *C. frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00%), água destilada estéril (controle água) e DXR 0,125mg/mL (controle positivo).

A **Tabela 2** apresenta os dados obtidos pelo diagnóstico estatístico do número de manchas mutantes por indivíduo dos descendentes MH dos cruzamentos ST e de HB respectivamente, tratados com água destilada estéril (controle negativo) e com as diferentes concentrações de *C. frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00%) associadas ao controle positivo Doxorubicina (DXR 0,125mg/mL).

Nos indivíduos descendentes do Cruzamento Padrão (ST), tratados com a associação *C. frutescens* com DXR (0,125mg/mL), foram verificadas reduções, estatisticamente significativas, apenas no total de manchas mutantes, nas concentrações de 0,25 e 0,50% do extrato de *C. frutescens*. Nas demais categorias de manchas não ocorrem reduções estatisticamente significativas.

Nos descendentes do Cruzamento de Alta Bioativação Metabólica (HB) foram verificadas reduções de manchas mutantes, induzidas pela DXR (0,125mg/mL), nas associações deste agente com o extrato aquoso de *C. frutescens* nas concentrações de 0,50% e 1,00%. Na concentração de 0,50% estas reduções ocorreram nas categorias de manchas simples pequenas e total de manchas. Nas demais categorias de manchas, nesta concentração do extrato, ocorreram reduções, mas não estatisticamente significativas. Na concentração de 1,00% do extrato as reduções ocorreram nas categorias de manchas simples grandes e total de manchas. Nas demais categorias de manchas as reduções não foram significativas. Estes resultados evidenciam a presença da atividade protetora do extrato aquoso de *C. frutescens* contra a ação genotóxica da DXR.

A **Figura 2** apresenta o número total de manchas por mosca, dos descendentes MH, de ambos os cruzamentos (ST e HB), tratados com as associações das diferentes concentrações de *C. frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00%) com a Doxorubicina (DXR a,125mg/mL), bem como, água destilada (controle água) e DXR 0,125mg/mL isoladamente.

## DISCUSSÃO

A avaliação do efeito antigenotóxico do extrato aquoso dos frutos de *C. frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00%), monitorada pelo SMART em asas de *D. melanogaster*, foi realizada mediante análise dos descendentes MH – Trans-heterozigotos Marcados uma vez que não foi diagnosticada genotoxicidade. A ausência desta foi verificada em ambos os cruzamentos (ST e HB), devido ao pequeno número de células mutantes observadas no presente estudo.

Na associação do extrato aquoso dos frutos de *C. frutescens*, nas diferentes concentrações, com a Doxorubicina (DXR 0,125mg/mL), em ambos os descendentes (ST e HB), foram verificadas reduções, estatisticamente significativas, nas frequências de manchas

mutantes. Tais reduções mostram um efeito antígenotóxico dos extratos contra a DXR (0,125mg/mL). As reduções foram verificadas nas concentrações do extrato aquoso dos frutos de *C. frutescens* a 0,25 e 0,50% do Cruzamento ST e 0,50 e 1,00% do Cruzamento HB.

A Doxorubicina é um dos mais importantes agentes quimioterápicos ativos no tratamento de tumores sólidos. A DXR induz mutações e aberrações cromossômicas em células normais e tumorais, por meio de enzimas celulares que são capazes de converter a DXR em metabólitos como os radicais livres, que se intercalam a molécula de DNA (MORELLI et al., 1996; STEWART et al., 1997; BEAN et al., 1992; AL-SHABANAH, 1993; BENCHEKROUN et al., 1992, apud ANTUNES E TAKAHASHI, 1998, p. 137).

Dessa forma, acreditamos que o efeito antígenotóxico do extrato aquoso de *C. frutescens* contra a DXR, observado no presente estudo, vem de componentes com ação antioxidante encontrados nessa espécie de pimenta como: capsaicina, vitamina C, carotenóides,  $\beta$ -caroteno, compostos fenólicos, entre outros.

A capsaicina, de acordo com Surh e Lee (1995), tem sido sugerida por exercer efeitos quimioprotetores por intermédio da modulação do metabolismo de carcinógenos/mutágenos impedindo suas interações com o DNA alvo. No entanto, outros estudos sugerem que a capsaicina ou o extrato de pimenta malagueta pode agir como um co-carcinógeno ou mesmo como um promotor de tumor (AGRAWAL et al., 1986).

A capsaicina parece promover e inibir quimicamente a carcinogênese e a mutagênese. Pequenas quantidades de capsaicina resultam em pouco ou nenhum efeito deletério, a ingestão pesada do composto parece estar associada à necrose, ulceração e ainda carcinogênese. Os metabólitos de capsaicina mediados pelo citocromo P-450 podem interagir com o DNA de células alvo de uma maneira irreversível, e por meio disso causar mutagenicidade e transformação maligna. Em contraste, a capsaicina pode alterar o metabolismo de carcinógenos químicos. Em baixas doses, os metabólitos tóxicos eletrofílicos da capsaicina

podem ser provavelmente removidos tanto por nucleófilos celulares quanto por glutathione reduzida. Se semelhantes processos são saturados por uma alta dosagem de capsaicina ou malfuncionamento dos mesmos, metabólitos tóxicos de capsaicina serão acumulados e conseqüentemente podem levar a carcinogênese (SURH e LEE, 1996).

Em análise realizada em ratos ficou comprovada a propriedade antioxidante exercida pela capsaicina, que interfere nos mecanismos envolvendo radicais livres (DE et al., 1989, apud DE et al., 1995, p. 253). Em posterior estudo, DE et al. (1995) demonstraram ainda que a capsaicina inibe significativamente as aberrações cromossômicas induzidas por Ciclofosfamida, um agente alquilante.

*C. frutescens* tem entre seus componentes uma das principais vitaminas antioxidantes, o ácido ascórbico. Este exibe, de acordo com a literatura, diversos relatos envolvendo efeito protetor e anticlastogênico (RAUSCHER et al., 1998; EDENHARDER et al., 1999; NEFIC, 2001). Olvera et al. (1995) verificaram a evidência de que o ácido ascórbico, quando usado como pré-tratamento, protege contra mutação/recombinação induzidas por raios- $\gamma$  e óxido de cromo (VI) em larvas *mwh+/+flr<sup>3</sup>* por intermédio do teste da mancha em *Drosophila*. Vijayalaxmi e Venu (1999) visualizaram o efeito protetor do ácido ascórbico na redução da frequência de micronúcleos induzidos por Ciclofosfamida e Bleomicina, sendo que na maior dose de Mitomicina (60mg/kg) houve também um ligeiro efeito inibitório.

De acordo com Antunes e Takahashi (1998) a vitamina C pode proteger células normais dos danos causados por radicais sem interferir com a citotoxicidade da DXR contra tumores. Neste estudo foi verificado que em baixas doses as vitaminas C e/ou E, combinadas ou não, causaram redução estatisticamente significativa no número de aberrações cromossômicas e também no número de metáfases anormais, em ratos Wistar.

O efeito protetor verificado no extrato dos frutos de *C. frutescens* do presente estudo pode ainda ter sido desencadeado por compostos carotenóides, que também apresentam propriedade antioxidante (COLLINS, 2001).

Konopacka et al. (1998) mostraram que a ação radioprotetora das vitaminas C e E, bem como do  $\beta$ -caroteno, pode ser associada (dependendo de suas concentrações) não apenas com o seqüestro de radicais livres mas também com o aumento da taxa do mecanismo de reparo do DNA. Os resultados deste estudo indicaram, pelo teste do Micronúcleo, que a administração oral da vitamina C, E e  $\beta$ -caroteno podem exercer efeito protetor contra danos genéticos induzidos pela exposição *in vivo* a raios gama, sendo estes efeitos dependentes da dose e seqüência de administração (antes ou após a irradiação).

O interesse em eventos contendo radicais livres, tem estimulado especulação de que sua desordem pode estar envolvida em uma série de doenças. Os alvos do ataque dos radicais livres são DNA, proteínas, e fosfolipídios polinsaturados. A peroxidação destes resulta na ruptura da membrana. A vitamina E juntamente com o ácido ascórbico, a vitamina A e o  $\beta$ -caroteno podem prevenir isto. (DIPLOCK, 1991).

Outros possíveis potencializadores da ação antígeno-tóxica de *C. frutescens* podem ser devidos aos compostos fenólicos. Pimentas contêm moderados a altos níveis de compostos fenólicos neutros ou flavonóides, fitoquímicos que são importantes componentes antioxidantes de uma dieta baseada em vegetais, além de tradicionais nutrientes, que podem reduzir o risco de doenças degenerativas (HASLER, 1998 apud HOWARD et al., 2000, p. 1713).



## CONCLUSÃO

Os mecanismos envolventes na ação dos componentes de *C. frutescens* em organismos vivos se mostraram controversos em vários ensaios. Mas, o SMART é um teste eficiente para avaliar atividade genotóxica/antigenotóxica de compostos simples e complexos, que além de detectar mutações, verifica-se também ação recombinogênica em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. O extrato dos frutos da pimenta malagueta é uma mistura complexa de vários possíveis antimutágenos, portanto, decidir qual composto é o mais importante antimutágeno pode ser difícil, porque a atividade protetora desta mistura pode não depender somente da ação de um destes componentes, mas por sua interação.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**<sup>1</sup>

AGRAWAL, R. C.; WIESSLER, M.; HECKER, E.; BHIDE, S. V. Tumour promoting effects of chili extract in BALB/c mice. **International Journal of Cancer**, v. 38, p. 689-695, 1986.

ANTUNES, L. M. G.; TAKAHASHI, C. S. Effects of high doses of vitamins C and E against doxorubicin-induced chromosomal damage in Wistar rat bone marrow cells. **Mutat. Res.**, v. 419, p. 137-143, 1998.

BUIATTI, E.; PALLI, D.; BIANCHI, S.; DECARLI, A.; AMADORI, D.; AVELLINI, C.; CIPRIANI, F.; COCCO, P.; GIACOSA, A.; LORENZINI, L.; MARUBINI, E.; PUNTONI, R.; SARAGONI, A.; FRAUMENI JR., J. F.; BLOT, W. A case-control study of gastric cancer and diet in Italy. III. Risk patterns by histologic type. **Int. J. Cancer**, v. 48, p. 369-374, 1991.

CICHEWICZ, R. H.; THORPE, P. A. The antimicrobial properties of chili pepper (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, p. 61-70, 1996.

COLLINS, A. R. Carotenoids and genomic stability. **Mutat. Res.**, v. 475, p. 21-28, 2001.

CORDELL, G. A.; ARAUJO, O. E. Identification, nomenclature and pharmacotherapy. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 27, p. 330-336, 1993.

---

<sup>1</sup> Referências bibliográficas seguem as normas propostas pela Bioscience Journal.

DE, A. K.; AGARWAL, K.; MUKHERJEE, A.; SENGUPTA, D. Inhibition by capsaicin against cyclophosphamide-induced clastogenicity and DNA damage in mice. **Environ. Mutagen.**, v. 335, p. 253-258, 1995.

DIPLOCK, A. Antioxidants nutrients and disease prevention: an overview. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p. 189-193, 1991.

EDENHARDER, R.; WORF-WANDELBURG, A.; DECKER, M.; PLATT, K. L. Antimutagenic effects and possible mechanisms of action of vitamins and related compounds against genotoxic heterocyclic amines from cooked food. **Gen. Toxicol. Environ. Mutagen.**, v. 444, p. 235-248, 1999.

FERRÃO, J. E. Especiarias, Cultura, Tecnologia, Comércio. Ministério do Plan. E Adm. Do Território, Sec. De Estado de Ciência e Tecnologia, Instituto de Investigação Científica Tropical. Artes Gráficas, Lisboa, p. 361, 1993.

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

FREI, H.; WÜRGLER, F. E. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in *Drosophila*. **Mutat. Res.**, v. 334, p. 247-258, 1995.

FRÖLICH, A.; WÜRGLER, F. E. New tester strains with improved bioactivation capacity for the *Drosophila* wing-spot test. **Mutat. Res.**, v. 216, p. 179-187, 1989.

GIACOMETTI, D. C. Ervas Condimentares e Especiarias. São Paulo: Nobel, p. 63-64, 1989.

GRAF, U.; VAN SCHAIK, N. Improved high bioactivations cross for the wing somatic mutations and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Mutat. Res.**, v. 271, p. 59-67, 1992.

GRAF, U.; FREI, A.; KAGI, A.; KATZ, A. J.; WÜRGLER, F. E. Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test. **Mutat. Res.**, v. 222, p. 359-73, 1989.

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.**, v. 6, p. 153-188, 1984.

GRAF, U.; WÜRGLER, F. E.; KATZ, A. J.; FREI, H.; JUON, H.; HALL, C. B.; KALE, P. G. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Environ. Mutagen.**, v. 6, p. 153-88, 1984.

HOWARD, L.R.; TALCOTT, S. T.; BRENES, C. H.; VILLALON, B. Changes in Phytochemical and Antioxidant Activity of Selected Pepper Cultivars (*Capsicum Species*) As Influenced by Maturity. **J. Agric. Food Chem**, v. 48, p. 1713-1720, 2000.

JANCSÓ, G.; KIRALY, E.; JANCSÓ-GABÓR, A. Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurons. **Nature**, v. 270, p. 22-29, 1977.

KONOPACKA, M.; WIDEL, M.; RZESZOWSKA-WOLNY, J. Modifying effect of vitamins C, E and beta-carotene against gamma-ray-induced DNA damage in mouse cells. **Mutat. Res.**, v. 417, p. 85-94, 1998.

LÓPEZ-CARRILLO, L.; ÁVILA, M. H.; DUBROW, R. Chili pepper consumption and gastric cancer in Mexico: a case-control study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 139, p. 263-271, 1994.

MARQUES, S.; OLIVEIRA, N. G.; CHAVEGA, T.; RUEFF, J. Micronuclei and sister chromatid exchanges induced by capsaicin in human lymphocytes. **Mutat. Res.**, v. 517, p. 39-46, 2002.

MIRVISH, S. S. Experimental Evidence for inhibition of *N*-Nitroso Compound Formation as a factor in the Negative Correlation between Vitamin C Consumption and the Incidence of Certain Cancers. **Cancer Research**, v. 54, p. 1894-1951, 1994.

NEFIC, H. Anticlastogenic effect of Vitamin C on cisplatin induced chromosome aberrations in human lymphocyte cultures. **Mutat. Res.**, v. 498, p. 89-98, nov. 2001.

OLVERA, O.; ZIMMERING, S.; ARCEO, C.; GUZMAN, J.; DE LA ROSA, M. E. Evidence for the protective effect of ascorbic acid (vitamin C) in treatment with gamma-rays and chromium (VI) oxide (CrO<sub>3</sub>) in somatic cells of *Drosophila*. **Mutat. Res.**, v. 346, p. 19-21, 1995.

PROUDLOCK, R.; THOMPSON, C.; LONGSTAFF, E. Examination of the potential genotoxicity of pure capsaicin in bacterial mutation, chromosome aberration, and rodent micronucleus tests. **Environ. Mol. Mutagen.**, 2004. Disponível em: <http://www.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract>. Acesso em 12 nov. 2004.

RAMIREZ-VICTORIA, P.; RINCÓN, J. G.; AGUIRRE, J. J. E.; ROMERO, S. M. Antimutagenic effect of one variety of green pepper (*Capsicum* spp.) and its possible interference with the nitrosation process. **Mutat. Res.**, v. 496, p. 39-45, 2001.

RAUSCHER, R.; EDENHARDER, R.; PLATT, K. L. In vitro antimutagenic and in vivo anticlastogenic effects of carotenoids and solvent extracts from fruits and vegetables rich in carotenoids. **Mutat. Res.**, v. 413, p. 129-142, 1998.

STAVRIC, B. Antimutagenesis and anticarcinogens in food. **Food Chem. Toxicol**, v. 32, p. 79-90, 1994.

SURH Y. J.; LEE S. S.: Capsaicin, a double-edged sword: toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. **Life Sciences**, v. 56, n. 22, p.1845-1855, 1995.

SURH Y. J.; LEE S. S.: Capsaicin in Hot Chili Pepper: Carcinogen, Co-carcinogen or Anticarcinogen?. **Fd Chem. Toxic.** v. 34, p. 313-316, 1996.

VIJAYALAXMI, K. K.; VENU, R. In vivo anticlastogenic effects of L-ascorbic acid in mice. **Mutat. Res.**, v. 438, p. 47-51, 1999.

VILASEÑOR, I. M.; OCAMPO, E. J. Clastogenicity of red pepper (*Capsicum frutescens* L.) extracts. **Mutat. Res.**, v. 312, p. 151-155, 1994.

**Tabela 1.** Frequências de manchas mutantes observadas nos descendentes MH de *Drosophila melanogaster*, dos Cruzamentos ST e HB, tratados com diferentes concentrações de Pimenta Malagueta (*Capsicum frutescens*).

Tratamento	N. de Indiv. (N)	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		
<b>Cruzamento ST</b>						
Controle Água	20	0,15 (03)	0,10 (02)	0,05 (01)	0,30 (06)	5
<i>C. frutescens</i> 0,25%	20	0,25 (05) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,25 (05) i	5
<i>C. frutescens</i> 0,50%	20	0,20 (04) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,25 (05) i	5
<i>C. frutescens</i> 1,00%	20	0,30 (06) i	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,35 (07) i	7
<b>Cruzamento HB</b>						
Controle Água	20	0,55 (11)	0,05 (01)	0,10 (02)	0,70 (14)	13
<i>C. frutescens</i> 0,25%	20	0,25 (05) -	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,30 (06) -	5
<i>C. frutescens</i> 0,50%	20	0,45 (09) -	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,55 (11) -	10
<i>C. frutescens</i> 1,00%	20	0,55 (11) i	0,20 (04) i	0,00 (00) i	0,75 (15) i	15

<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  $\sqrt{tr}^3$  raras.

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

**Tabela 2.** Frequências de manchas mutantes observadas nos descendentes MH de *Drosophila melanogaster*, dos Cruzamentos ST e HB, tratados com diferentes concentrações de Pimenta Malagueta (*Capsicum frutescens*) associadas a Doxorubicina (DXR 0,125mg/mL).

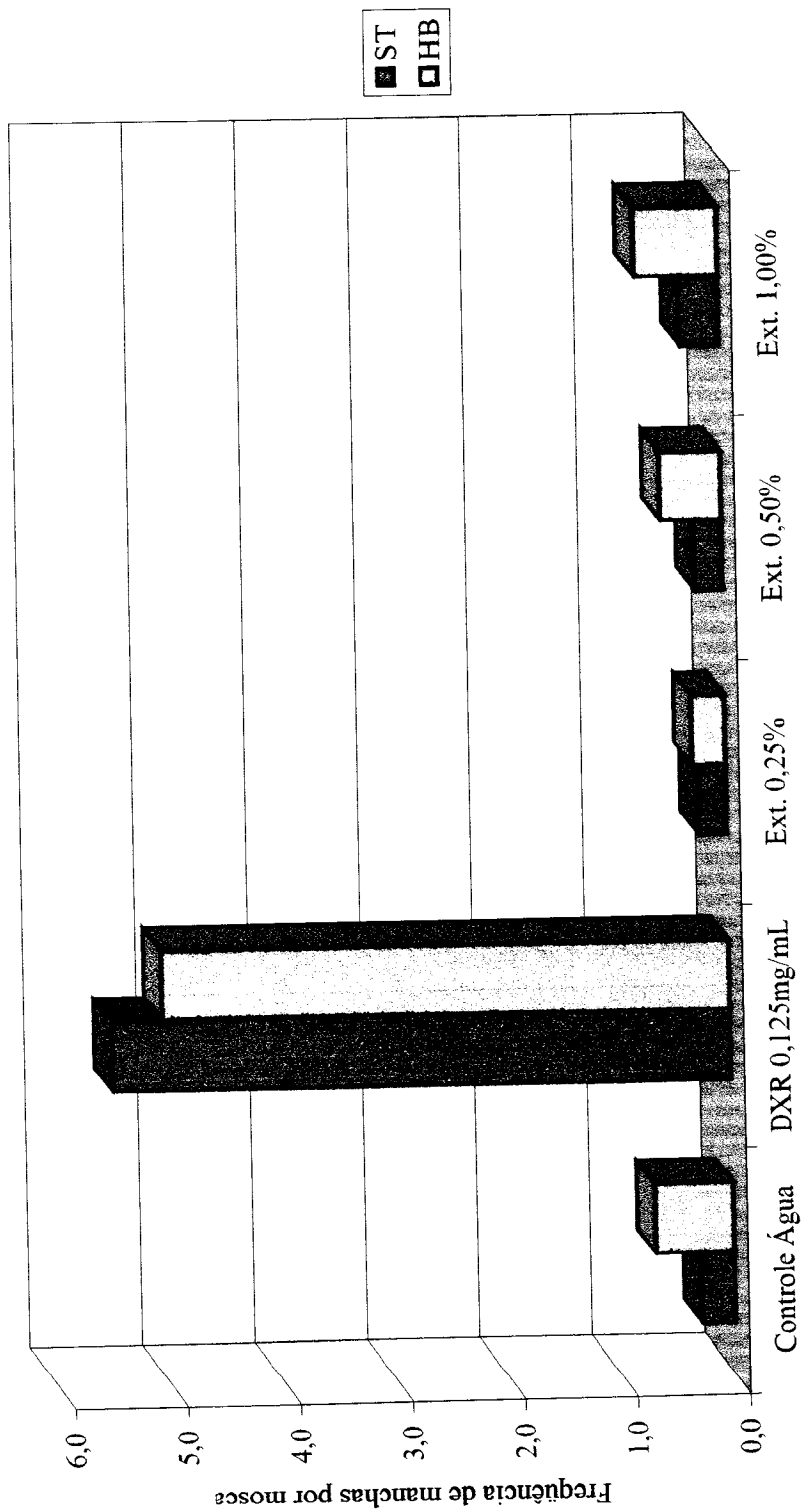
Tratamento	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. Estatístico <sup>a,b</sup>				Total manchas mwh <sup>c</sup> (n)
		MSP (1-2 céls) <sup>c</sup> m = 2	MSG (>2 céls) <sup>c</sup> m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
<b>Cruzamento ST</b>						
Controle Água	20	0,15 (03)	0,10 (02)	0,05 (01)	0,25 (05)	100
DXR 0,125mg/mL	20	2,45 (49) +	1,60 (32) +	1,45 (29) +	5,50 (110) +	78
<i>C. frutescens</i> 0,25% + DXR	20	1,70 (34) -	1,15 (23) -	1,30 (26) -	4,15 (83) *	81
<i>C. frutescens</i> 0,50% + DXR	20	1,70 (34) -	1,05 (21) -	1,45 (29) -	4,20 (84) *	106
<i>C. frutescens</i> 1,00% + DXR	20	2,40 (48) -	1,15 (23) -	1,95 (39) -	5,50 (110) -	
<b>Cruzamento HB</b>						
Controle Água	20	0,55 (11)	0,05 (01)	0,10 (02)	0,65 (13)	99
DXR 0,125mg/mL	20	2,80 (56) +	1,20 (24) +	1,05 (21) +	5,05 (101) +	99
<i>C. frutescens</i> 0,25% + DXR	20	2,85 (57) -	0,70 (14) -	1,55 (31) -	5,10 (102) -	51
<i>C. frutescens</i> 0,50% + DXR	20	1,25 (25) *	0,80 (16) -	0,55 (11) -	2,60 (52) *	67
<i>C. frutescens</i> 1,00% + DXR	20	2,10 (42) -	0,65 (13) *	0,75 (15) -	3,50 (70) *	

<sup>a</sup>Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988), comparado com o Controle Água: +, positivo. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância  $\alpha = \beta = 0,05$ .

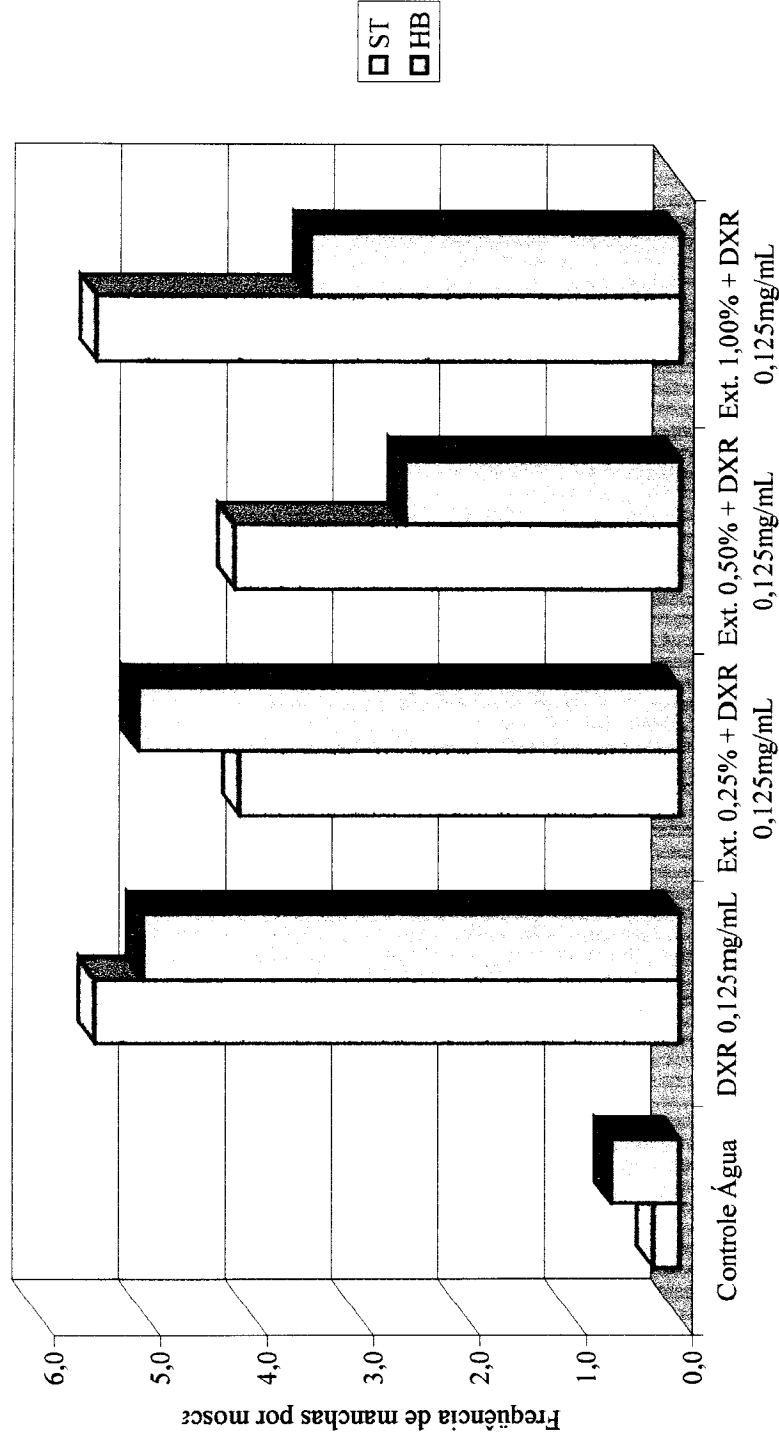
<sup>b</sup>Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1995); Teste U-Mann, Whitney: \*, redução estatisticamente significativa (compara

<sup>c</sup>Incluindo manchas simples *flr*<sup>3</sup> raras.





**Figura 1:** Frequência total de manchas mutantes por mosca, observada em asas dos descendentes MH de *Drosophila melanogaster*, provenientes dos cruzamentos ST e HB, após tratamento crônico com: água destilada (controle negativo); Doxorrubicina 0,125mg/mL somente e as diferentes concentrações do extrato dos frutos de *Capsicum frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00%).



**Figura 2:** Frequência total de manchas mutantes por mosca, observada em asas dos descendentes MH de *Drosophila melanogaster*, provenientes dos cruzamentos ST e HB, após tratamento crônico com: água destilada (controle negativo); Doxorrubicina 0,125mg/mL (controle positivo) e as associações das diferentes concentrações do extrato dos frutos de *Capsicum frutescens* (0,25, 0,50 e 1,00).