

## Nanotoxicidade de bioativos utilizando *Drosophila melanogaster* como modelo biológico

### Nanotoxicity of bioactives using *Drosophila melanogaster* as a biological model.

#### RESUMO

**Pamella Gabriela Golin Aires**  
[pamellaga@gmail.com](mailto:pamellaga@gmail.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

**Rafael Porto Ineu**  
[rafaelineu@utfpr.edu.br](mailto:rafaelineu@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

**Patrícia Macário Borsato**  
[Patriciamacario.b@hotmail.com](mailto:Patriciamacario.b@hotmail.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

**Odinei Hess Gonçalves**  
[odinei@utfpr.edu.br](mailto:odinei@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Este trabalho apresenta uma pesquisa sobre a nanotoxicidade da curcumina, que é um composto bioativo extraído do rizoma da cúrcuma e vem sendo muito estudada devido as suas propriedades antioxidantes e anticancerígenas. Nos testes foram utilizados como, como modelo biológico, *Drosophila melanogaster* pois elas apresentam alta sensibilidade a substâncias tóxicas e seu uso promove os 3Rs (redução, refinamento e substituição) da utilização de animais de laboratórios em testes de toxicidade. Com isso, foi usada a curcumina encapsula, para aumentar a solubilidade em água em concentrações finais de 3, 10, 30, 100µM. Foram feitos testes *in vivo* e *ex vivo* e a determinação da atividade da enzima acetilcolinesterase. Com as análises podemos observar que as moscas tratadas com nanopartículas de curcumina em concentração de 100 µM houve diferenças significativa quando comparada as moscas tratadas em concentrações mais baixas, tanto nos testes *in vivo* como no *ex vivo*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nanotoxicidade. Curcumina. Encapsulação.

#### ABSTRACT

This work presents research on the nanotoxicity of bioactive compounds, in particular turmeric, which is a bioactive compound extracted from the turmeric rhizome and has been extensively studied due to its antioxidant and anticancer properties. In the tests, *Drosophila melanogaster* was used as a biological model because they are highly sensitive to toxic substances and their use promotes the 3Rs (reduction, refinement and substitution) of the use of laboratory animals in toxicity tests. With this, curcumin encapsulates, for greater solubility in concentrations of 3.0, 10.0, 30.0, 100.0 µM. *In vivo*, *ex vivo* test, and the determination of acetylcholinesterase activity were performed. With the analysis we can observe that the flies treated with curcumin nanoparticles at a concentration of 100 µM there were significant differences when compared to the flies treated at lower concentrations, both in *in vivo* and *ex vivo* tests.

**KEYWORDS:** Nanotoxicity. Curcumin. Encapsulation.

**Recebido:** 19 ago. 2020.

**Aprovado:** 01 out. 2020.

**Direito autorial:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



## INTRODUÇÃO

Compostos bioativos são compostos que tem efeito sobre a saúde humana, dentre esses compostos bioativos está curcumina que tem seu uso na forma de temperos, medicamento fitoterápico e aditivo na indústria alimentícia (ZHANG et al., 2013).

A curcumina vem sendo estudada devido as suas propriedades antioxidantes e anticancerígenas (SUCKOW e SUCKOW, 2006). Entretanto, apresenta limitada disponibilidade e baixa solubilidade em água. Isto ocorre provavelmente pelo fato da mesma ser um polifenol de baixa solubilidade, absorção celular e estabilidade (PANDAREESH et al., 2016). Compostos bioativos são, geralmente, insolúveis em água e parcialmente em temperatura ambiente e suscetíveis ao oxigênio, luz e calor. A encapsulação pode melhorar sua solubilidade e sua preservação durante processos de fabricação.

Modelos experimentais alternativos vem sendo utilizados para a verificação da toxicidade de biocompostos. Dentre eles, a *Drosophila melanogaster* (DM) apresenta alta sensibilidade a substâncias tóxicas e seu uso promove os 3Rs (redução, refinamento e substituição) da utilização de animais de laboratórios em testes de toxicidade (ADEDARA et al., 2015). Estes modelos alternativos podem estabelecer um potencial seguro ou de risco de um grande número de fitoconstituintes e melhorar o entendimento dos mecanismos da atividade biológica (BIANCHINI et al., 2016).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para o teste *in vivo* de sobrevivência, foram utilizadas *Drosophila melanogaster* que foram criadas e mantidas em frascos de vidro na incubadora do tipo BOD, sob condições padrão ( $23 \pm 1$  °C, 50% de umidade), em ciclo de 12 horas claro/escuro. Foram primeiramente sincronizadas e tratadas com meio padrão. Para sincronização foi escolhido vidros em boas condições e que apresentaram um maior número de larvas, sendo que todas as moscas vivas foram retiradas restando apenas as larvas dentro dos vidros. Após 2 ou 3 dias, as larvas começaram a eclodir e após mais dois dias as moscas jovens tornaram-se adultas e assim utilizamos para o teste. Com as moscas anestesiadas sob refrigeração, foram transferidas 100 moscas para o meio de análise previamente preparado (1% de ágar; 1% de levedura; 0,05% de sacarose; 1% de leite em pó; 0,08% de metilparabeno) com concentrações diferentes de nanopartículas contendo nanopartículas de curcumina e controle água (3, 10, 30, 100  $\mu$ M).

Para o teste *ex vivo*, foram feitas análises biológicas utilizando *Drosophila melanogaster* que foram tratadas por 5 dias em meio contendo nanopartículas de curcumina em diferentes concentrações, dentre essas foram separadas 100 moscas e anestesiadas sob refrigeração à 4°C e homogeneizadas manualmente na proporção de 1 mosca/10uL de Tris-HCl (50 mM, pH 7,0), centrifugadas a 6.000 rpm por 10 minutos e separado o sobrenadante (S1). Após isso foram aliquoteadas por suas concentrações de nanopartículas de curcumina e armazenadas à -80°C para posteriormente serem analisadas.

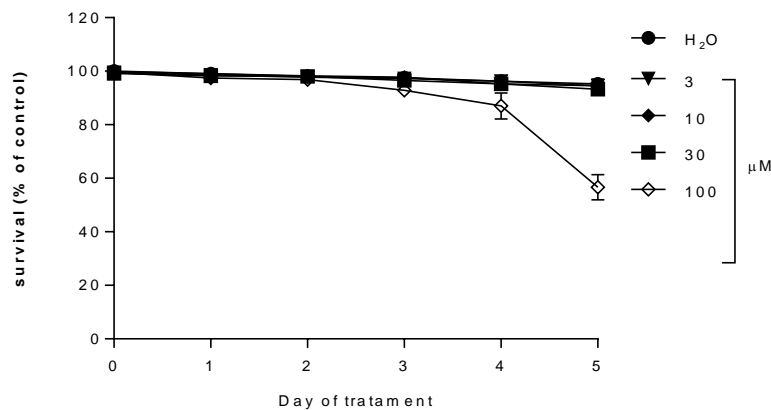
A determinação da atividade da acetilcolinesterase foi de terminada em espectrofotômetro através do método de (ELLMAN, 1959) com algumas

modificações. O meio da reação foi tampão TFK 100 mM (pH 7,5), 5,5'-Dithiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) 2 mM e a solução de sobrenadante (S1). Foi adicionado o substrato acetilcolina 8 mM ao meio contendo o homogeneizado suplementado com nanopartículas com concentrações diferentes de curcumina e o controle (água). A atividade da AChE foi medida através do aumento da absorbância em leitor de placa (Thermo-Plate Reader) em comprimento de onda de 405 nm, com leituras a cada minuto durante 4 minutos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

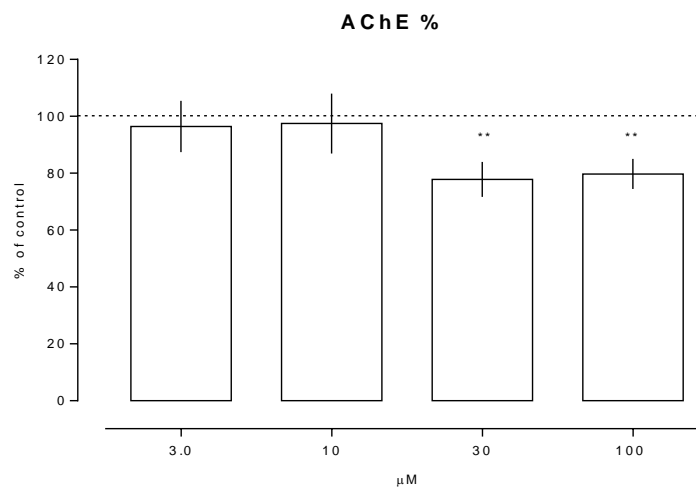
Neste estudo foi determinado o efeito da dieta suplementada com nanopartículas de curcumina na atividade locomotora de *D. melanogaster* (fig. 1 e 2).

Figura 1 – Taxa de sobrevivência de *Drosophila melanogaster* (n=5) expostas a diferentes concentrações de nanopartículas de curcumina durante 5 dias.



Fonte: Autoria própria.

Figura 2 – Efeito das nanopartículas de curcumina na atividade da enzima AChE ex vivo no tecido de *Drosophila melanogaster*.



Fonte: Autoria própria.

Na análise de sobrevivência, figura 1, podemos observar o efeito da dieta suplementada com nanopartículas de curcumina. No final do tratamento de 5 dias observamos uma taxa de mortalidade maior das moscas após 4 dias, das moscas tratadas com nanopartículas de curcumina na concentração de 100 $\mu$ M.

Os dados, na figura 2, revelaram que a dieta suplementada com as nanopartículas contendo curcumina na concentração 30 $\mu$ M e 100 $\mu$ M causou uma redução significativa na atividade *ex vivo* da enzima AChE. A influência de nanopartículas de curcumina nas enzimas colinesterases ainda é pouco conhecida, no entanto, alguns estudos com letalidade induzida por exposição a compostos nocivos às células em *Drosophila melanogaster* foram avaliados, utilizando curcumina pura como constituinte de efeito neuroprotetor. Estes estudos mostraram redução da atividade das enzimas colinérgicas bem como a capacidade de compensar a neurotoxicidade induzida (PARK et al., 2012; PRASAD; MURALIDHARA, 2014).

## CONCLUSÃO

Com esse trabalho podemos observar o efeito das nanopartículas de curcumina na *Drosophila melanogaster* e identificamos que em concentrações menores de curcumina não há mudança significativa na taxa de sobrevivência das moscas e somente na maior concentração causou uma redução significativa na atividade *ex vivo* da enzima AChE. Com isso os estudos podem ser continuados a partir das concentrações de 3 $\mu$ M e 10 $\mu$ M que não causaram mudanças expressivas nos experimentos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço meu orientador pela oportunidade de participar deste projeto e ganhar experiência e conhecimento nesta área de estudo e também ao DIRPPG-CM. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

ADEDARA, I. A. et al. Influence of diphenyl diselenide on chlorpyrifos-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.32, p. 52-59, 1 out. 2015.

BIANCHINI, M. C. et al. Peumus boldus (Boldo) Aqueous Extract Present Better Protective Effect than Boldine Against Manganese-Induced Toxicity in *D. melanogaster*. **Neurochemical Research**, v.41, p. 2699-2707, 2016.

ELLMAN, G. L. **Tissue Sulfyd Groups**. Archives of Biochemistry and Biophysics, p.70-77, 1959.

PANDAREESH, M. D. et al. Curcumin Monoglucoside Shows Improved Bioavailability and Mitigates Rotenone Induced Neurotoxicity in Cell and Drosophila Models of Parkinson's Disease. **Neurochemical Research**, 2016.

PARK, J. H. et al. Neuroprotective properties of phytochemicals against paraquat-induced oxidative stress and neurotoxicity in Drosophila melanogaster. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 2, p. 118–125, 1 out. 2012.

SUCKOW, B. K.; SUCKOW, M. A. Lifespan extension by the antioxidant curcumin in Drosophila melanogaster. **International journal of biomedical science : IJBS**, v.2,4, p. 402-405, 2006.

ZHANG, Z. GUO et al. Effect of curcumin on aged Drosophila Melanogaster: A pathway prediction analysis. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v.21, n.2, p. 115-122, 2013.