



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA VOLUNTÁRIA-PICVOL

**AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA COM ESTRADIOL EM CÉLULAS SOMÁTICAS  
DE *DROSOPHILA MELANOGASTER***

**Avaliação de toxicidade de estradiol e sobrevivências com larvas de *D. melanogaster***

Ciências Biológicas

Genética

Mutagenicidade

Relatório final

Período: 09/2022 a 08/2023

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PICVOL

Orientador: Bruno Lassmar Bueno Valadares

Autora: Nathália Mikhaela Xavier Ferreira



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**Sumário**

|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| <b>1. Introdução</b>                 | <b>3</b> |
| <b>2. Objetivos</b>                  | <b>6</b> |
| <b>3. Metodologia</b>                | <b>6</b> |
| <b>4. Resultados e discussões</b>    | <b>7</b> |
| <b>5. Conclusões</b>                 | <b>9</b> |
| <b>6. Perspectivas</b>               | <b>9</b> |
| <b>7. Referências bibliográficas</b> | <b>9</b> |



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

## **Introdução**

Estrógenos podem ser divididos em naturais e sintéticos. Os naturais são mais utilizados na reposição hormonal, enquanto os sintéticos são aplicados em métodos de contracepção. Os hormônios naturais são compostos basicamente por estradiol, estrona e estriol. Os dois primeiros são produtos de síntese ovariana, enquanto o terceiro é consequência do metabolismo periférico do estradiol e estrona (JÚNIOR e ATHANAZIO, 2007; HOFFMAN et al., 2014).

A terapia de reposição hormonal (TRH) tem sua principal aplicação na menopausa com o objetivo de diminuir os sintomas do climatério, além da prevenção de doenças cardiovasculares e da osteoporose, aumentar os níveis de colágeno da pele e manter a expressão da sexualidade. Dentre os tipos de estrogênio, encontramos sendo utilizados para TRH o 17- $\beta$ -estradiol, estrogênios conjugados, estriol, promestrieno, benzoato de estradiol, valerato de estradiol e estradiol, sendo este último um dos mais utilizados e que apresenta maior eficiência (WIGODA et al., 1999).

O climatério contempla algumas mudanças que podem ocorrer em maior ou menor intensidade, durante o período que acompanha a diminuição da função ovariana (BRASIL, 2008). A idade média para ocorrência do climatério é de 51 anos, mas, em alguns casos, ele pode acontecer precocemente decorrente de vários outros fatores. O hipoestrogenismo que ocorre nesta etapa altera consideravelmente o organismo, deixando as mulheres vulneráveis aos distúrbios causados pela deficiência de estrógenos. Esta diminuição dos níveis hormonais pode gerar alterações ginecológicas e extra-ginecológicas (LARA, 2009).

São inúmeros os sintomas relacionados, sendo os principais a osteoporose, doenças cardiovasculares, alterações cutâneas e urinárias, sudorese, fogachos, ansiedade e irregularidades menstruais, os quais comprometem a qualidade de vida da mulher.

Buscando uma melhoria dessas condições surgiu a Terapia de Reposição Hormonal - TRH, com a promessa de alívio dos sintomas e prevenção de uma série de doenças decorrentes dessa fase. Embora seu emprego venha aumentando na população de mulheres, os efeitos a médio e longo prazos são controversos (PARDINI, 2014; ALVES, 2001).

Desta forma, a instituição de tratamento específico, como a terapia medicamentosa hormonal ou não hormonal e/ou terapias não medicamentosas podem ser necessárias quando bem indicadas. Apesar dos riscos, a hormonoterapia é ainda a escolha mais eficaz para o tratamento das manifestações clínicas. O tratamento pela administração de hormônios visa, em



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

especial, combater os sintomas vasomotores, o ressecamento vaginal (que causa a dispareunia) e da pele, preservar a massa óssea, melhorar o sono, impedir a deterioração da função cognitiva e estimular a libido (BRASIL, 2008).

As sociedades científicas internacionais entraram em consenso de que a TH (terapia hormonal) deve ser iniciada para alívio dos sintomas desagradáveis relacionados à redução dos esteróides sexuais, como as alterações menstruais, fogachos/sudorese e aqueles consequentes à atrofia urogenital. A dose administrada deve ser a mínima eficaz para melhorar os sintomas, devendo ser interrompida assim que os benefícios desejados tenham sido alcançados ou os riscos superam os benefícios. Atualmente, a TH não deve mais ser iniciada com o objetivo de prevenção primária ou secundária de doença cardiovascular. O mesmo ocorre em relação à osteoporose, em que a TH não é a primeira escolha de tratamento, já que existem outras condutas com resultados bastante satisfatórios, a não ser que haja também outras indicações para a terapia hormonal (BRASIL, 2008).

O potencial biológico dos diferentes tipos de estrógenos depende basicamente da afinidade de cada tipo de molécula ao seu receptor-alvo. Demonstrou-se que o tempo de retenção do estradiol no receptor-alvo é maior que o da estrona sendo, portanto, um hormônio mais potente. O estriol é um estrogênio fraco e sua afinidade com o receptor é de 20% a 30% quando comparado com a molécula de estradiol (JÚNIOR e ATHANAZIO, 2007).

O metabolismo dos estrógenos ocorre principalmente no fígado onde a estrona é transformada em estriol e epiestriol. Há também a conjugação de tais metabólitos em sulfatos e glicuronatos, que são altamente hidrossolúveis e facilmente excretados pelos rins. Metade dos estrógenos é excretada na urina nas primeiras 24 horas (JÚNIOR e ATHANAZIO, 2007). O estradiol age como um dos fatores que aumentam a ação do citocromo P450. Sendo que o citocromo é responsável por facilitar a excreção de xenobióticos, metabolismo hepático de bilirrubina, ativação ou desativação de vários fármacos e toxinas (KAO et al., 2017).

A maioria dos fármacos não é completamente biodegradada e segundo estudos preliminares realizados por SPONCHIADO et al. (2008) utilizando o teste do Micronúcleo, junto com a avaliação das Anormalidades Nucleares e Ensaio Cometa infere-se o efeito genotóxico do 17  $\beta$ -estradiol, tanto para exposição aguda como a crônica aos resíduos encontrados em corpos d'água proporcionam efeito genotóxico em eritrócitos de *Oreochromis niloticus*, o que demonstra o potencial ecotoxicológico desta substância.

Segundo SPONCHIADO, este hormônio pode ser considerado uma substância com características clastogênicas, indutor de danos no DNA, com potencial mutagênico, para *Oreochromis niloticus*.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

A principal preocupação relacionada à TRH é o risco de câncer do endométrio, sendo esta, a sétima neoplasia maligna mais comum do mundo, com incidência dez vezes maior em países desenvolvidos. Diversos estudos apontam o aumento da incidência de casos de câncer de endométrio em mulheres entre 50 e 70 anos que realizam TRH (MARINHO et al., 2001). Os principais fatores de risco relacionados à hiperplasia endometrial e progressão para o câncer estão relacionados à hiperestimulação do endométrio pela exposição crônica aos altos níveis circulantes de estrogênio, sem oposição de efeitos antiproliferativos da progesterona e estrona (JÚNIOR e ATHANAZIO, 2007).

As mulheres expostas de forma constante aos estrogênios endógenos ou exógenos não neutralizados pela progesterona apresentam maior risco para desenvolverem hiperplasia e câncer do endométrio. O risco de câncer do endométrio é 6 a 8 vezes maior em mulheres que usam estrogênio, comparado às mulheres que não o usam. A associação entre terapia hormonal do climatério e câncer do ovário não está esclarecida. Um estudo de coorte com 44.241 mulheres na pós-menopausa concluiu que mulheres que usaram apenas estrogênio como terapia de hormonal por mais de 10 anos apresentaram risco significativo de desenvolverem câncer ovariano e mulheres que usaram por pouco tempo estrogênio/progestogênio não apresentaram risco aumentado. A relação entre o câncer de mama e a terapia hormonal é complexa. Existem dezenas de estudos observacionais, caso-controle e coorte, com resultados não muito consistentes. Não há estudos randomizados duplo-cego. (MARINHO et al., 2001).

O teste para detecção de mutação e recombinação somática ("Somatic Mutation and Recombination Test" - SMART) foi desenvolvido por Graf et al. (1984), sendo considerado um teste rápido, barato e que produz resultados confiáveis, inequívocos e altamente reproduzíveis. Utiliza como organismo teste a *Drosophila melanogaster*, que apresenta as vantagens de ter um curto período de geração, o que possibilita a rapidez do teste, um pequeno número de cromossomos e linhagens muito bem caracterizadas geneticamente. A *D. melanogaster* possui, ainda, o sistema enzimático citocromo P450 semelhante ao dos mamíferos, que permite o metabolismo de agentes xenobióticos (Baars, 1980 apud Graf et al., 1984; Spanó et al., 2001). O SMART vem se mostrando eficiente na avaliação de efeitos genotóxicos e antígenotóxicos para uma grande diversidade de compostos, como mostram Valadares et al. (2004; 2007; 2008; 2010), Pereira et al. (2008), Fragiorge et al. (2007; 2008), Cardoso et al. (2015), REZENDE et al. (2013) e NAVES et al. (2021).

Avaliação de potencial genotóxico é uma exigência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para todo medicamento industrial comercializado (Brasil, 2010). No entanto, os testes empregados são limitados



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

apenas à detecção de mutações de pequeno porte, não abrangendo alguns outros tipos de alterações genéticas de grande importância como a recombinação somática.

Diante da importância e controvérsias sobre o uso do estradiol como repositor hormonal e da escassez de maiores informações relacionadas à sua genotoxicidade, este trabalho tem como objetivo avaliar possíveis efeitos genotóxicos do estradiol em células somáticas de *Drosophila melanogaster*.

### **Objetivos**

Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade do estradiol em larvas de *D. melanogaster* para definição de concentrações a serem utilizadas em testes de mutação e recombinação somática.

### **Metodologia**

Linhagens mutantes de *D. melanogaster* utilizadas e mantidas em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura para *Drosophila* (820ml de água, 25g de fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*), 11g de ágar, 150g de banana amassada e 1g de nipagin) foram utilizadas para a realização de dois tipos de cruzamentos experimentais: 1- cruzamento padrão (ST): fêmeas virgens da linhagem flare<sup>3</sup> (flr<sup>3</sup>/IN (3LR)TM3, ri pp sep l(3) 89Aa bx34e e BdS) cruzadas com machos da linhagem multiple wing hairs (mwh/mwh) (GRAF et al., 1984); 2- cruzamento da alta bioativação (HB): fêmeas virgens da linhagem ORR/flare<sup>3</sup> (ORR/ORR; flr<sup>3</sup>/In (3LR) TM3, ri pp sepl (3) 89 Aa bx34e e BdS cruzadas com machos da linhagem multiple wing hairs (mwh/mwh) (GRAF; VAN SCHAİK, 1992).

Os ovos foram coletados por um período de 8 horas em frascos contendo uma base sólida de ágar (3% de ágar em água) e uma camada de fermento suplementado com sacarose. Larvas de 3º estágio (72±4 horas), provenientes de ambos cruzamentos, foram lavadas com água destilada e coletadas com o auxílio de uma peneira de malha fina. Em seguida, foram submetidas a tratamento crônico (aproximadamente 48 horas) em frascos contendo 1,5g de meio de cultura alternativo (purê de batata instantâneo Yoki®) e 5ml de solução aquosa de estradiol em diferentes concentrações.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Foi utilizado 17-b-estradiol micronizado, comercializado sob o nome NATIFA (Laboratório LIBBS, São Paulo - SP, Brasil). Após a maceração de comprimidos, a solução de estradiol foi preparada em água destilada estéril em diferentes concentrações (2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mg/mL). Como controle negativo foi utilizado água destilada estéril e, como controle positivo, uretano 0,891 mg/mL.

Para o teste de sobrevivência foram adicionadas 10 larvas de terceiro estágio em cada frasco de experimento, os quais foram realizados em triplicata. Foi contabilizado o número de indivíduos adultos que eclodiram em cada tratamento, os quais foram coletados e conservados em álcool 70%. A partir do teste de sobrevivência de larvas de *D. melanogaster* foram determinadas as concentrações a serem utilizadas nos experimentos de mutagenicidade.

### Resultados e discussões

Os resultados obtidos nos os tratamentos das larvas provenientes dos cruzamentos ST e HB, em três repetições (R1, R2 e R3), com as diferentes concentrações de estradiol (EST) e seus respectivos controles (uretano e água) estão apresentados na Tabela 1.

Observou-se que as concentrações mais elevadas de estradiol (2,0 e 1,0 mg/mL) apresentaram menor taxa de sobrevivência, tanto nos descendentes do cruzamento ST quanto HB, inclusive a total mortalidade das larvas na concentração de 2,0 mg/mL de estradiol nos descendentes de HB (nas três repetições do experimento).

**Tabela 1** - Taxa de sobrevivência de larvas de *D. melanogaster* provenientes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta ativação metabólica (HB) tratadas com diferentes concentrações de estradiol ( EST 2,0; 1,0; 0,5; 0,25 e 0,125 mg/mL) e seus respectivos controles positivo (uretano 0,891 mg/mL) e negativo (água destilada estéril) em três repetições.

| CRUZAMENTO | TRATAMENTO      | R1 | R2 | R3 | TOTAL | % DE SOBREVIVÊNCIA |
|------------|-----------------|----|----|----|-------|--------------------|
| ST         | ÁGUA            | 10 | 9  | 10 | 29    | 96,7               |
|            | EST 2,0 mg/mL   | 3  | 0  | 4  | 7     | 23,3               |
|            | EST 1,0 mg/mL   | 4  | 5  | 2  | 11    | 36,7               |
|            | EST 0,5 mg/mL   | 6  | 9  | 8  | 23    | 76,7               |
|            | EST 0,25 mg/mL  | 5  | 8  | 8  | 21    | 70,0               |
|            | EST 0,125 mg/mL | 9  | 10 | 10 | 29    | 96,7               |

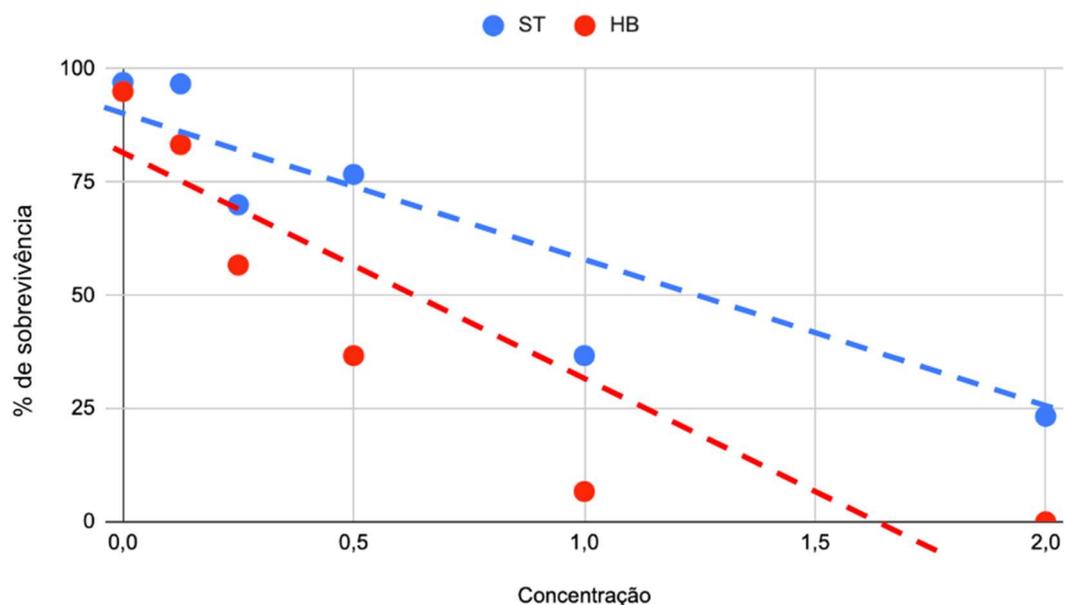


**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

|    |                 |   |    |    |    |      |
|----|-----------------|---|----|----|----|------|
|    | URE 0,891 mg/mL | 7 | 7  | 9  | 23 | 76,7 |
| HB | ÁGUA            | 9 | 10 | 10 | 29 | 96,7 |
|    | EST 2,0 mg/mL   | 0 | 0  | 0  | 0  | 0,0  |
|    | EST 1,0 mg/mL   | 1 | 1  | 0  | 2  | 6,7  |
|    | EST 0,5 mg/mL   | 3 | 4  | 4  | 11 | 36,7 |
|    | EST 0,25 mg/mL  | 6 | 5  | 6  | 17 | 56,7 |
|    | EST 0,125 mg/mL | 9 | 8  | 8  | 25 | 83,3 |
|    | URE 0,891 mg/mL | 8 | 9  | 9  | 26 | 86,7 |

Resultados semelhantes foram encontrados por VIEGA et al. (2020), avaliando a toxicidade do estradiol em testes com *Artemia salina*, onde verificaram também maior toxicidade nas concentrações mais altas da droga.

O percentual de sobrevivência apresentou índice de correlação entre dose/resposta de -0.9304496028947585 para os indivíduos do cruzamento ST e de -0.8830162502850487 para HB, mostrando a dependência da sobrevivência inversamente proporcional à dose utilizada. Os dados de correlação e a regressão linear para cruzamentos estão representados na Figura 1.



**Figura 1** - Representação da correlação do percentual de sobrevivência de larvas de *D. melanogaster* com a concentração de estradiol utilizadas nos



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

tratamentos de indivíduos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta ativação metabólica (HB).

Considerando a necessidade de um número suficiente de indivíduos para análises conclusivas dos testes de mutagenicidade, os dados de sobrevivência indicaram como concentrações mais adequadas as diluições de estradiol a partir de 0,5 mg/mL.

Testes de sobrevivência e toxicidade associados ao SMART são importantes para determinação das concentrações a serem utilizadas nos experimentos de mutagenicidade, como também auxiliam na elucidação das atividades biológicas das drogas avaliadas. Tal associação de experimentos vem sendo utilizada em outros trabalhos como de REZENDE et al. (2013) e NAVES et al. (2021).

### **Conclusões**

Os resultados observados mostraram que estradiol apresenta mais toxicidade nas maiores concentrações testadas (2,0 e 1,0 mg/mL) tanto nos descendentes do cruzamento padrão (ST) quanto de alta ativação metabólica (HB), sugerindo as concentrações menores que 0,5 mg/mL para realização dos testes de genotoxicidade.

### **Perspectivas**

Os dados de sobrevivência e toxicidade permitiram a realização dos experimentos de mutagenicidade, desenvolvidos em outros planos de trabalho associados a esse mesmo projeto. Nas próximas etapas serão realizadas outras modalidades de avaliação, sugerindo ainda testes complementares com outros modelos biológicos para posterior comparação.

### **Referências bibliográficas**

ALVES, E. A. e VISMARI, L. Terapêutica de Reposição Hormonal em mulheres menopausadas: riscos e benefícios. Revista Científica Uninove, v.2, p. 77-81, 2001.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

BRASIL. 2010. Guia para condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Manual de Atenção à Mulher no Climatério/Menopausa / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Brasília, DF : Editora do Ministério da Saúde, 2008.

CARDOSO MN, SANTOS ALP, ALVES MV, VALADARES, BLB. Avaliação de atividade mutagênica de amostras de própolis vermelha do Estado de Sergipe (Brasil) pelo Teste de Mutação e Recombinação Somática em *Drosophila melanogaster*. *Scientia Plena*, 11(1), p. 1-8, 2015.

FRAGIORGE EJ, SPANÓ MA, ANTUNES LMG. 2007. Modulatory effects of the antioxidant ascorbic acid on the direct genotoxicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Gen Mol Biol* 30:449-455.

FRAGIORGE EJ, REZENDE AA, GRAF U, SPANÓ MA. 2008. Comparative genotoxicity evaluation of imidazolinone herbicides in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food Chem Toxicol*, 46(1):393-401.

FREI, H., WÜRGLER, F.E. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mutat Res* 203, 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* 334, 247-258, 1995.

GRAF, U, WÜRGLER, FE, KATZ, AJ, FREI H, JUON H, HALL, CB, KALE, PG. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis* 6:153-188, 1984.

GRAF U, FREI H, KÄGI A, KATZ AJ, WÜRGLER FE. Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat Res* 222:359-373, 1989.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

GRAF U, van SCHAIK N. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 271:59-67, 1992.

HOFFMAN, Barbara L. et al. (Org.). *Ginecologia de Williams*. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 1401 p, 2014.

JÚNIOR NLCA, ATHANAZIO DA. Terapia de reposição hormonal e o câncer do endométrio. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, Nov. 2007.

KAO, Ta-Lun et al. Estrogen–Estrogen Receptor a Signaling Facilitates Bilirubin Metabolism in Regenerating Liver Through Regulating Cytochrome P450 2A6 Expression. *SANG Journals*, [S.l.], v. 26, p. 1822-1829, 2017.

LARA, G. M., CASCAE, A.C., JACOBSEN, T. GOMES, A.P., KÜHNE, J. GRINGS, A.C. Riscos e Benefícios da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) em mulheres na menopausa. *RBAC*, v. 41(3), p. 229-233, 2009.

MARINHO RM, FERNANDES CE, WEHBA S, NETO PAM. BARACAT EC. Atenção Primária e Terapia de Reposição Hormonal no Climatério. *Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia*, Rio de Janeiro, 16, jun. 2001.

NAVES MPC, DE MORAIS CR, DE FREITAS V, RIBEIRO DL, LOPES DS, ANTUNES LMG, DE MELO-RODRIGUES V, DE REZENDE AAA, SPANÓ MA. Mutagenic and genotoxic activities of Phospholipase A2 Bothropstoxin-I from *Bothrops jararacussu* in *Drosophila melanogaster* and human cell lines. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 182, p. 1602-1610, 2021.

PARDINI D. Terapia de reposição hormonal na menopausa. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 58(2), 172-181, 2014.

PEREIRA DG, ANTUNES LMG, GRAF U, SPANÓ MA. Protection by *Panax ginseng* C.A. Meyer against the genotoxicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Genet Mol Biol*, 31(4): 947-955, 2008.

REZENDE AAA, MUNARI CC, OLIVEIRA PF, FERREIRA NH, TAVARES DC, ANDRADE-SILVA ML, REZENDE KCS, SPANÓ MA. A comparative study of the modulatory effects of (-)-cubebin on the mutagenicity/recombinogenicity induced by different chemical agents. *Food and Chemical Toxicology*, v. 55, p. 645-652, 2013.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

SPONCHIADO G, FORTUNATO REYNALDO EM, ANDRADE ACB, REQUIÃO L, ZASSO F, ADAM ML, RIBAS DE OLIVEIRA CM. Avaliação da genotoxicidade de 17 –estradiol utilizando como modelo experimental *Oreochromis niloticus*. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 54.,2008, Salvador, Set. 2008.

WEYGODA MM, FELIPPO-JR RB, GOMES MAS, CLAPAUCH R. Monitorizando a terapia de reposição estrogênica (TER) na menopausa. Arq Bras Endocrinol Metab, vol. 43, no. 05, 336-343, 1999.

VALADARES BLB, SPANÓ MA, NEPOMUCENO JC. Ausência de efeitos genotóxicos de um extrato aquoso de própolis (EAP) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Biosci J, 20(1): 123-129, 2004.

VALADARES, BLB. 2007. Avaliação de derivados sintéticos da testosterona pelo teste de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG.

VALADARES BLB, GRAF U, SPANÓ MA. Inhibitory effects of water extract of propolis on doxorubicin-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. Food Chem Toxicol, 46(3):1103-1110, 2008.

VALADARES BLB, SILVA LM, OLIVEIRA, JS, MOREIRA ALC. 2010. Teste de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*: uma importante ferramenta na avaliação de genotoxicidade ambiental e avaliação de agentes mutagênicos e antimutagênicos naturais e sintéticos. In: REIS IF, REIS JBA, BARBIÉRI RS. Tópicos em Ciências Naturais e da Saúde, Caratinga: UNEC, 233-250.

VIEGA BL, ROCHA AM, DÜSMAN E. Cosmetics with hormonal composition for bioindicators *Artemia salina* L. and *Allium cepa* L. toxic potential. Environmental Science and Pollution Research, 27:6659–6666, 2020.