

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO CLORIDRATO DE METILFENITADO EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE *Allium cepa*

Lorrane Rodrigues Silva¹

Murillo Sousa Pinto¹

Gabriela Rodrigues de Sousa²

Aroldo Vieira de Moraes Filho³

RESUMO: A Ritalina® (cloridrato de metilfenidato) tem sido o medicamento de primeira escolha no tratamento de Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). Devido ao seu consumo em massa pelo ser humano e a escassez de estudos que elucidam sua relação com a mutação, é importante investigar se a RITALINA® é um agente mutagênico/carcinogênico em potencial. Por isso, com o objetivo de avaliar o potencial citotóxico e mutagênico da Ritalina® em *Allium cepa*, foi realizada uma pesquisa experimental com três concentrações testes do medicamento, controles positivo e negativo e feita a contagem em 5000 células que apresentaram divisão, não divisão e mutação. O fármaco apresentou potenciais citotóxicos e mutagênicos comparado ao controle negativo. Portanto, é notável a necessidade de avaliar o risco/benefício na prescrição do medicamento por ser o fármaco mais utilizado no tratamento de TDAH.

Palavras-chave: Genotoxicidade. Mutagênese. Ritalina.

ABSTRACT: *Ritalin® (methylphenidate) has been a first-choice drug in the treatment of Attention Deficit and Hyperactivity Disorder (ADHD). Due to its mass consumption by humans and the scarcity of studies that explain its relation with mutagenesis, it's important to investigate if Ritalin® it's potentially a mutagenic/carcinogenic substance. Therefore, with the aim to avail Ritalin's® cytotoxic and mutagenic potential in Allium cepa onions, an experiment was conducted with three different doses, positive and negative controls and later 5000 cells were counted and differentiated in division, non-division and mutation. The drug presented cytotoxic and mutagenic potential compared to negative control. Thus, it is noticeable the necessity of weighing the advantages and disadvantages on prescribing the drug, because of its importance in the ADHD treatment.*

Keywords: Genotoxicity. Mutagenesis. Ritalin.

¹ Acadêmicos de Biomedicina da Faculdade Alfredo Nasser

² Mestranda em Assistência e Avaliação em Saúde pela Universidade Federal de Goiás

³ Professor Doutor do Instituto de Ciências da Saúde da Faculdade Alfredo Nasser

1 INTRODUÇÃO

O cloridrato de metilfenidato (Ritalina®) é um dos estimulantes mais prescritos no mundo para o tratamento farmacológico do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). Na contemporaneidade, algumas substâncias psicotrópicas ao modificarem os modos de ser, de viver e de trabalhar, são utilizadas para minimização do sofrimento (MEDEIROS, 2017; BARBOSA, 2017).

No final do século XX aumentou-se o uso de medicamentos devido ao desenvolvimento da indústria farmacêutica e ao crescimento do número de pessoas tendo acesso aos fármacos. Acredita-se que a utilização de medicamentos do tipo anfetaminas ocorra desde a Segunda Guerra Mundial, situação em que os combatentes buscavam força física e aprimoramento cognitivo. O metilfenidato foi criado em 1940, mas somente em 1955 foi comercializado com indicação para o tratamento de narcolepsia e, somente após a década de 60, tal fármaco foi recomendado para o uso em crianças hiperativas (RODRIGUES, 2018).

Esse medicamento é uma anfetamina clássica, que desenvolve os seus efeitos sobre diversos mecanismos, do qual se destaca a influência sobre o sistema dopaminérgico. Apresenta mecanismos de ação sobre os sistemas dopaminérgicos e serotoninérgicos, nos quais os efeitos vão desde a estimulação à alucinação (LOPES, 2017).

Os neuroestimulantes são drogas que causam estimulação do Sistema Nervoso Central (SNC). Dentro desse grupo de drogas, encontra-se o metilfenidato. Esse fármaco causa estimulação, pois inibe a receptação de noradrenalina e dopamina nas vias de recompensa, fato que aumenta a disponibilidade desses transmissores nessas regiões. Em suma, os psicoestimulantes podem agir de diferentes formas, porém a resposta final da célula será o aumento da atividade do SNC (TENÓRIO, 2016).

A Ritalina® tem sido o medicamento de primeira escolha no tratamento de TDAH, prescrito por médicos e reconhecido por inúmeros profissionais como o único medicamento com comprovada eficácia para o tratamento supracitado. É preciso que se enfatize a existência da preocupação dos pais e cuidadores sobre o uso dessa droga. Tal preocupação é coerente pelo fato de a droga apresentar riscos de dependência e, também

devem ser considerados os riscos causados em razão dos efeitos colaterais que apresenta. Tal risco fica explicitado em virtude do controle especial da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e pelo medicamento ter sido incluído pela Organização das Nações Unidas (ONU) na convenção de substâncias psicotrópicas desde 1971 (MATOS et al., 2018).

O uso do metilfenidato tem sido difundido popularmente nos últimos anos de forma inapropriada, por ser a “droga da obediência” e instrumento de melhoria do desempenho, seja de crianças, de adolescentes ou de adultos. Devido ao consumo em massa pelo ser humano e a escassez de estudos que elucidam sua relação com a mutação, é importante investigar se a Ritalina® para verificar se é um agente mutagênico/carcinogênico em potencial (SANTOS; SILVA; ORSOLIN, 2018).

Nesse sentido, o estudo realizado em cebolas da espécie *Allium cepa*, além de ser de baixo custo, é classificado como um teste eficaz que avalia citotoxicidade e genotoxicidade em consequência da multiplicação frenética das raízes, pelo número diverso de células em divisão. Esse teste é reconhecido pelo Programa Internacional de Segurança Química e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas. Portanto, os testes genotóxicos alertam sobre riscos potenciais, anomalias cromossômicas nas células meristemáticas de raízes de cebola e amplia o complexo de avaliação dos efeitos adversos de fármaco (LESSA; SILVA; CARIELLO, 2017).

Diante disso, essa pesquisa teve o objetivo de avaliar a citotoxicidade e genotoxicidade da Ritalina® em *Allium cepa*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Bulbos de cebola orgânica foram adquiridos no comércio local por fonte confiável. As escamas externas secas foram retiradas sem prejudicar a área radicular e o parênquima central da coroa de brotamento também foi retirado, por incisão circular, para aumentar a absorção e a uniformidade do brotamento e crescimento das raízes. Estes bulbos foram lavados em água corrente por cerca de 30 minutos. Cuidadosamente, as raízes dos bulbos foram colocadas em exposição com as amostras, em béqueres de vidro cobertos, para evitar a entrada de luz, de forma que apenas o parênquima central da coroa de brotamento

ficasse em contato com as amostras. Para cada amostra analisada, foram usados cinco bulbos de cebolas que ficaram em contato com as amostras por 24 horas. O controle negativo foi realizado da mesma maneira, utilizando água destilada (RANK et al., 1993, KRUGER et al., 2009; CUCHIARA et al., 2012; ARAUJO et al., 2017).

As concentrações testes foram padronizadas com base nas doses de 10 mg/L, 50 mg/L e 100 mg/L do medicamento Cloridrato de Metilfenidato.

O controle positivo foi Paracetamol® na concentração 800 mg/L. Após o crescimento, as raízes imersas nas amostras foram medidas e em seguida fixadas em solução de Carnoy (ácido acético e álcool etílico, na concentração de 3:1) por 12 horas. Após fixação, as raízes foram lavadas em água destilada por cinco minutos e realizada a coloração em lâminas. Para tanto, as raízes foram coradas em corante orceína acética, na diluição de orceína 2% em ácido acético a 45%. As pontas das raízes foram cortadas e aquecidas por um minuto, em contato com o corante. Em seguida, as raízes foram colocadas em lâminas, cobertas por lamínulas e uma gota do corante orceína acética foi adicionada entre lâmina e lamínula. Posteriormente, a raiz foi pressionada com cuidado. A observação das lâminas foi realizada em microscópio óptico, com objetiva de 100x. Realizou-se a contagem de 5.000 células, para observação dos índices mitóticos e as alterações cromossômicas (RANK et al., 1993; RIBEIRO et al., 2012; DIAS et al., 2014; YUSUPOV et al., 2019).

O cálculo do índice mitótico (IM) e do índice de aberrações cromossômicas e mitóticas (IACM) ocorreu de acordo com as equações abaixo:

$$IM = n^{\circ} \text{ de células em mitose} \times 100 \div n^{\circ} \text{ total de células observadas}$$

$$IACM = n^{\circ} \text{ de células alteradas} \times 100 \div n^{\circ} \text{ total de células observadas}$$

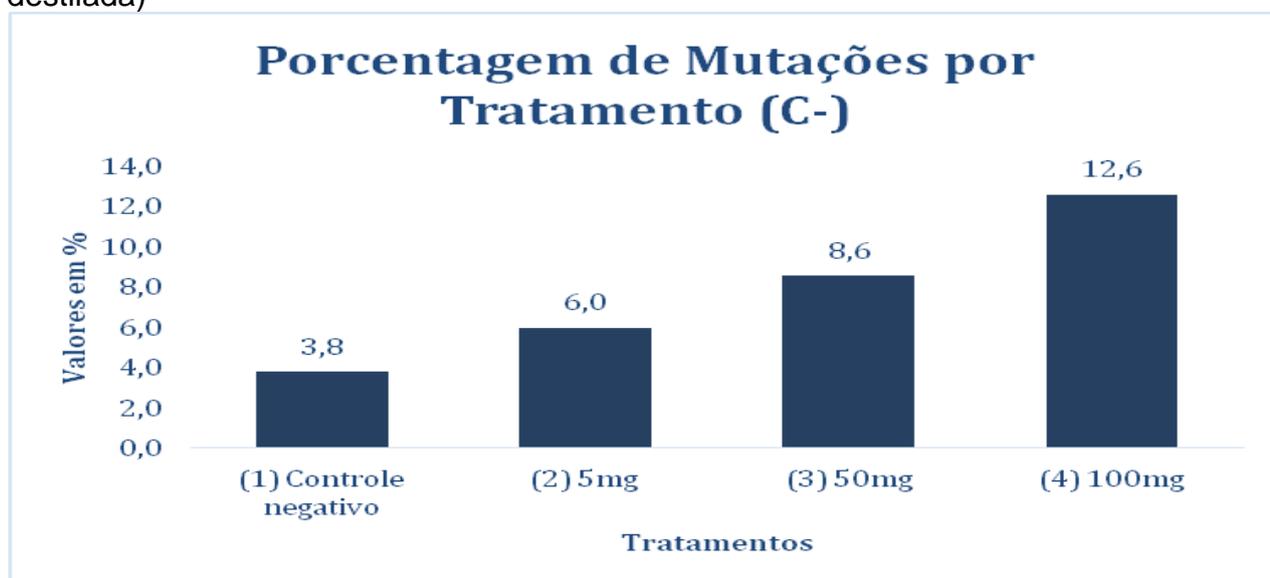
Os testes utilizando na análise dos dados foram Kolmogorov-Smirnov e Kruskal-Wallis quando necessário a comparação de proporções, Odds Ratio (Risco de Chance) e Risco Relativo. A análise optou-se um intervalo de confiança de 95%, sendo a significância ≤ 0.05 .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de crescimento das raízes não apresentaram distribuição normal, deste modo, foi realizada análise de variância não paramétrica, para verificar a ausência de significância (diferenças significativas) entre o controle negativo e os tratamentos expostos (Gráfico 1). Contudo verificaram-se diferenças significativas ($p < 0.05$) quando se comparou o grupo controle com o grupo exposto, mais precisamente na concentração de 100 mg/L encontrando uma média de crescimento superior ao do grupo controle.

Em relação aos outros parâmetros avaliados, constatou-se que os tratamentos utilizados exercem tendência na indução de mutações, inclusive, superior ao controle positivo ($p < 0.05$), interferindo também nas divisões celulares. As concentrações de 50 mg/L e 100 mg/L demonstraram-se associadas à chance de risco de mutações e aumento do risco de mutações ($p < 0.05$). Os resultados considerando o grupo controle e o grupo exposto revelou tendência significativa na indução de mutações, considerando as concentrações testadas, interferindo também na proporção de divisões celulares no risco de chance e no aumento do risco relativo ($p < 0.05$).

Gráfico 2. Porcentagem de mutações comparadas com o controle negativo (água destilada)



Fonte: próprio autor

As aberrações cromossômicas, segundo Costa e Teixeira (2012), são caracterizadas por modificações na estrutura ou no número de cromossomos, as quais podem ocorrer de forma espontânea ou serem resultantes de tratamentos com alguma substância. Dentre as aberrações cromossômicas, é possível encontrar durante a metáfase cromossomos dicêntricos, junção neurotransmissora da sinapse elétrica (GAPs) e quebras de cromátides. A mutação é consequência do dano ao DNA e esse pode ser o estágio inicial do processo pelo qual a maioria dos produtos químicos começa a formar tumores. As mutações podem ocorrer tanto em células germinativas quanto em células somáticas e, dependendo dos genes, podem ou não ter efeitos fenotípicos (TUBIANA, 2009).

O abuso de psicoestimulantes é um sério problema de saúde pública internacional devido ao seu alto potencial de dependência e o risco elevado de comprometimento neurológico quando utilizado por um longo período. Alterações sobre o sistema dopaminérgico, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e excitotoxicidade, têm sido alguns dos mecanismos envolvidos na neurotoxicidade dos psicoestimulantes. Além disso, mais recentemente, tem sido mostrado que essas substâncias podem promover neuroinflamação, alterações na barreira cérebro-sangue e na neurogênese (SCHMITZ, 2015).

A provável causa de genotoxicidade em *Allium cepa* pode ser derivada da ação indireta do fármaco:

por indução de estresse oxidativo, de preferência mitocondrial e gerações de espécies reativas de oxigênio (ERO), o que pode possibilitar a ligação de radicais livres com as proteínas e DNA. A geração de radicais livres constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. (BARBOSA, 2010)

Além disso, foi relatado na literatura que a utilização deste medicamento pode acarretar várias reações adversas, como cefaleia, diminuição do apetite, ansiedade, alucinações (visuais e táteis), síndrome de Tourette, visão turva, garganta inflamada (febre ou resfriado), inchaço dos lábios/língua, pressão arterial elevada, convulsões graves, distúrbios dos vasos sanguíneos cerebrais, dificuldade para dormir, dermatite esfoliativa, indisposição estomacal, náusea, vômitos, nervosismo, dor nas articulações, tosse, transpiração excessiva, anemia, boca seca, sinais de tremor, desaceleração do crescimento (peso e altura) em crianças, humor deprimido, câibras musculares, função

hepática anormal, discinesia, entre outras reações (FERREIRA, 2018). Os dados dessa pesquisa demonstram ainda que, além desses efeitos adversos, a Ritalina® pode ser citotóxica e genotóxica para *A. cepa*.

Allium cepa é um eficiente sistema teste utilizado para avaliação do potencial genotóxico, citotóxico e mutagênico de substâncias, devido a sua sensibilidade e boa correlação com sistemas de teste em mamíferos. Para possibilitar a avaliação dos efeitos ou danos que agentes mutagênicos podem causar, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, o que é uma característica da *A. cepa* (RODRIGUES et al, 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os dados oferecidos no desenvolvimento da pesquisa, é notável a necessidade de avaliar o risco/benefício na prescrição do medicamento por ser o fármaco mais utilizado no tratamento de TDAH. Por isso, os profissionais da saúde devem questionar o bem-estar e a saúde do paciente, pois a prescrição e o uso sem parâmetros podem submeter o paciente a risco clínico grave e tornar o tratamento mais demorado, além de levar a complicações ainda mais graves.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, M. P. T., SOUSA, G. R., FERREIRA, G. A., PORTO, H. K. P., SANTOS, M. O., OLIVEIRA, V. P. C., & FILHO, A. V. M. (2017). Avaliação do potencial antimutagênico e mutagênico do nanovetor vitamina c em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*. **Saúde & Ciência Em Ação**, 3(2), 40-51.

BARBOSA, K.B.F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, Campinas, 23(4):629-643, jul./ago., 2010

BIANCHI, E., FARAONE, S., ORTEGA, F. J., GONÇALVES, V. P., & ZORZANELLI, R. T. (2017). Controversias sobre ADHD y metilfenidato en discusiones sobre medicalización en Argentina y Brasil. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, 27, 641-660.

CASTELLS, X., BLANCO-SILVENTE, L., & CUNILL, R. (2018). **Amphetamines for Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in Adults**. *Cochrane Database Of Systematic Reviews*, (8).

ESHER, A., & COUTINHO, T. (2017). Uso racional de medicamentos, pharmaceuticalização e usos do metilfenidato. **Ciência & Saúde Coletiva**, 22, 2571-2580.

EVANGELISTA, L. N. (2019). **As consequências da privação do sono e os efeitos do uso indiscriminado de psicoestimulantes**. <http://bdm.unb.br/handle/10483/21239>

FERNANDES, L. A., MAIA, G., APOLINÁRIO-SOUZA, T., & RIBEIRO-SILVA, P. C. (2018). Análise do exercício físico em crianças com transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH): Uma Revisão Integrativa. **Revista Da Associação Brasileira De Atividade Motora Adaptada**, 19(1).

FERREIRA, M. S. (2018). **Medicalização da vida. Alumni-Revista Discente Da Uniabeu-Issn 2318-3985**, 5(10), 26-34.

LESSA, L. R., DA SILVA, M. C. C., & CARIELLO, F. D. M. R. (2017). Fundamentos e aplicações do *Allium cepa* como bioindicador de mutagenicidade e citotoxicidade de plantas medicinais. **Revista Intertox De Toxicologia, Risco Ambiental E Sociedade**, 10(3).

LOPES, P. A. D. V. (2017). **Consumo de drogas em jovens adultos no norte de Portugal**. Bachelor's Thesis, [Sn].

MAN, K. K., et al. (2015). Methylphenidate and the risk of trauma. **Pediatrics**, 135(1), 40-48.

MARCON, C., DA SILVA, L. A. M., DE MORAES, C. M. B., MARTINS, J. S., & CARPES, A. D. (2016). Uso de anfetaminas e substâncias relacionadas na sociedade contemporânea. **Disciplinarum Scientia| Saúde**, 13(2), 247-263.

MEDEIROS, J. M., & BARBOSA, A. G. (2017). Uso não prescrito de cloridrato de metilfenidato entre estudantes universitários. **Revista De Pesquisa Interdisciplinar**, 2(2).

MOURA, M. H. D. (2017). As consequências do uso prolongado e não terapêutico do metilfenidato. <Http://Repositorio.Faema.Edu.Br:8000/Jspui/Handle/123456789/1247>

OLIVEIRA, D. B. D., RAGAZZO, A. C. S. M., BARRETO, N. M. P. V., & OLIVEIRA, I. R. D. **Prevalência do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) em uma Escola Pública da Cidade de Salvador, Bahia.** (2016).

POPI, J. M., DE SÁ RIECHI, T. I., & HAMDAN, A. C. (2017). Triagem Infantil Neuropsicológica Computadorizada para Indicação do TDAH em Crianças e Adolescentes. **Psicologia Argumento**, 34(84).

RODRIGUES, D. D., DOS SANTOS, B. K., SILVA, R., DA SILVA, R. R., SANTANA, D. L., & DOS SANTOS, W. M. S. (2016). Padronização da Técnica do *Allium cepa* para Pesquisa de Danos Mutagênicos em Infusão de Planta na Cidade de Guaraí. **Revista Eletrônica De Farmácia**, 13(1.1).

RODRIGUES, T. D. S. (2018). **Dislexia e TDAH no Ensino Superior: O Recurso à Medicalização Como Privilégio para o Ingresso?**

RON, A. G., BLASCO-FONTECILLA, H., HERNANI, B. H., & CHUECA, J. S. (2015). Tratamiento farmacológico estimulante del TDAH. **Revista Española de**, 71(2), 75-81.

SANTOS, J. C., SILVA, S. C., & ORSOLIN, P. C. (2018). Efeito Modulador Da Ritalina® (Metilfenidato) Sobre A Ação Carcinogênica Da Doxorubicina Em *Drosophila Melanogaster*. **Revista Da Faculdade De Ciências Médicas De Sorocaba**, 20(4), 207-211.

SCHMITZ, F. **Tratamento Precoce Crônico com uma Dose Clinicamente Relevante de Metilfenidato Aumenta os Níveis de Glutamato no Líquido Cefalorraquidiano e Prejudica a Homeostase Glutamatérgica em Córtex Pré-Frontal de Ratos.** (2015).

SILVA JÚNIOR, D. S., COSTA, K. S., SILVA, D. S., TELES, F. D. D., MARCOLINO, M. M. V., & SCHNEID, J. L. (2016). Prevalência Do Uso De Metilfenidato Entre Acadêmicos De Medicina Do Centro Universitário Unirg–Tocantins. **Revista Cereus**, 8(3), 172-188.

SOUZA, A., SANTOS, R., SILVA, W., & CARVALHO, A. (2017). Como A Família E A Escola Podem Contribuir Para O Processo De Aprendizagem De Alunos Portadores De Tdah. **Anais 4ª Jornada De Iniciação Científica**, 99.

SOUZA, F. A., & OLIVEIRA, V. C. (2018). Transtorno Do Déficit De Atenção E Hiperatividade: Atuação Do Psicólogo Apoio À Criança Com TDAH. **Psicologia E Saúde Em Debate**, 4(Suppl1), 21-21.

STOREBØ, O. J., et al. (2015). Methylphenidate for Children and Adolescents with Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, (11).

TENÓRIO, F. (2016). Instrumentação Em Farmacodependência. Fundação CECIERJ. v.u.

WAGNER, F., ROHDE, L.A.P., TRENTINI, C.M. (2016). **Neuropsicologia Do Transtorno De Déficit De Atenção/Hiperatividade: Modelos Neuropsicológicos E Resultados De Estudos Empíricos**. *Psicousf. Bragança Paulista*, Sp. Vol. 21, N. 3 (Set./Dez. 2016), P. 573-582.