

AVLIAÇÃO DA RESPOSTA GENOTÓXICA E CITOTÓXICA DE USUÁRIOS DE ISOTRETINOÍNA.

AVLIATION OF GENOTOXICITY AND CITOTOXICITY RESPONSE OF ISOTRETINOIN USERS.

Rebeca Buest de Mesquita Silva

Universidade Positivo - rbcbuest@gmail.com

Ana Flávia Kohler

Universidade Positivo - ana.fk@hotmail.com

Paula Moiana da Costa

Universidade Positivo - biomedicina@up.edu.br

RESUMO

A isotretinoína (ácido 13-cis-retinóico) é um retinoide proveniente do metabolismo da vitamina A (retinol). A vitamina A tem ação antioxidante, mas em determinadas situações fisiológicas atua como pró-oxidante, formando espécies reativas de oxigênio, e ainda promove alterações no ciclo celular, tais como apoptose. A isotretinoína via oral é a única entre os retinoides empregada no tratamento dos quadros mais severos de acne, pois inibe a atividade da glândula sebácea, e controla a proliferação do *Propionibacterium acnes*. O estudo avaliou o potencial genotóxico e citotóxico da isotretinoína em pacientes que estão em tratamento (grupo em tratamento) ou que o tenham finalizado (grupo exposto). Para tal, foi utilizado o teste de micronúcleos e a avaliação da apoptose em mucosa oral obtida por raspagem, e teste de micronúcleos em sangue periférico por punção digital de voluntários. Participaram do estudo 36 indivíduos distribuídos em grupos amostrais: controle negativo, grupo em tratamento e grupo exposto. A comparação entre os danos genotóxicos totais nos grupos controle negativo, em tratamento e grupo exposto não demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$), não sendo possível afirmar que a isotretinoína exerce um efeito genotóxico na mucosa oral. Também não foi observada genotoxicidade em linfócitos. A frequência de cromatina condensada em células da mucosa oral apresentou diferença significativa quando comparada a cariorrexe e núcleo picnótico ($p < 0,05$), indicando início do processo apoptótico. O efeito citotóxico desencadeado pela isotretinoína no grupo tratamento sugere ação direta do medicamento nas células da mucosa oral. Entretanto, sugere-se que não há efeito genotóxico acumulativo resultante da exposição a isotretinoína.

Palavras-chave: Ácido 13-cis retinóico. Vitamina A. Acne.

ABSTRACT

The isotretinoin (13 cis-retinoic acid) is a retinoid that comes from the metabolism of vitamin A (retinol). Vitamin A has antioxidant action, but in some physiological situations it acts like a pro-oxidant, forming oxygen reactive species as well as promoting alterations at the cellular circle, such as apoptosis. The oral use of isotretinoin is the only use among retinoids used in severe cases of acne, for its use inhibits the sebaceous gland and controls the proliferation of *Propionibacterium acnes*. The

study evaluated the genotoxic potential of the isotretinoin in patients that have been under treatment or have finished it. For that, micronucleus tests in oral mucosa were taken by scraping and in peripheral blood by digital puncture of volunteers. Thirty-six volunteers have participated in the study, distributed in sample groups: negative control, under treatment group and exposed group. The comparison among the total genotoxic data in the negative control, under treatment and exposed groups did not show significant statistics differences ($p>0,05$), which was not possible to affirm that the isotretinoin carries out a genotoxic effect in the oral mucosa. It also has not been observed genotoxicity in lymphocyte. The condensed chromatin presented a meaningful difference when compared to karyorrhexis and pyknotic nucleus ($p<0,05$), indicating early stages of the apoptotic process. The cytotoxic effect observed in the treatment group indicates cytotoxicity caused by the medication, however, there are suggestions that there is not a significant accumulative genotoxic effect resulting of the isotretinoin exposure.

Keywords: 13-cis retinoic acid. Vitamin A. Retinol. Acne.

INTRODUÇÃO

A acne é uma doença dermatológica bastante frequente, segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA, 2006). A acne atinge principalmente adolescentes e adultos jovens, e está associada ao desenvolvimento de lesões cutâneas permanentes, que afetam a autoestima e podem causar estresse emocional e psicossocial (RODRIGUES, 2015, p. 1; BRASIL, 2010). Em um estudo epidemiológico da SBD, realizado em 2006, foi avaliado o perfil das consultas dermatológicas no Brasil. A acne aparece como causa principal de consultas dermatológicas, assim como causa primordial de consultas ambulatoriais do setor privado. Segundo o levantamento, a acne é a causa secundária de consultas do setor público, sendo a primeira causa, as micoses superficiais. A análise da faixa etária demonstrou a prevalência da acne como causa principal de consultas na faixa etária abaixo de 15 anos e de 15 a 39 anos. A acne aparece também como diagnóstico mais frequente no Brasil, com 14,04% dos 25 diagnósticos mais frequentes nos atendimentos dermatológicos. No estudo foram analisados 57 mil atendimentos dermatológicos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA, 2006).

O tratamento da acne em seus casos mais graves evita complicações permanentes, e pode ser realizado através de esfoliantes, antibióticos tópicos ou

sistêmicos, isotretinoína sistêmica e intervenções cirúrgicas. A escolha da forma de tratamento desta dermatose depende do grau de acometimento da pele (BRENNER, 2005). A isotretinoína (ácido 13-cis-retinoico) é considerada a melhor opção de tratamento para casos graves de acne, como a nódulo-cística (grau III) e conglobata (grau IV), ou ainda em outros graus desta afecção que se mostram resistentes ao tratamento tópico e aos antibióticos orais (BORGES, 2011; CAJUEIRO, 2014). É indicada também para o tratamento clínico de dermatoses, distúrbios de queratinização e psoríase. Um estudo recente mostra que o consumo de isotretinoína tem progressivamente aumentado em Portugal. Entre 2000 e 2013 o uso deste retinoide aumentou em 36% e a dose utilizada em 47% (RODRIGUES, 2015). Este medicamento atua inibindo a atividade da glândula sebácea diminui o tamanho desta e reduz a produção de sebo; tem capacidade de modular a proliferação e diferenciação de células epiteliais; controla a proliferação do *Propionibacterium acnes*, em decorrência da diminuição da produção de sebo; tem atividade anti-inflamatória, visto que inibe a ação quimiotática de monócitos e neutrófilos (NASCIMENTO, 2011; CAJUEIRO, 2014; BORGES, 2011; GURBUZ, 2015).

A isotretinoína é um análogo ativo sintético da vitamina A – um retinoide (DINIZ, 2002; OLIVEIRA, 2009; CAJUEIRO, 2014; BORGES, 2011). Os retinoides são divididos em gerações, onde a primeira compreende o retinol, também conhecido como vitamina A, e os compostos que derivam do seu metabolismo, como a tretinoína e a isotretinoína; a segunda geração é dada por análogos sintéticos da vitamina A, entre eles etretinato e a acitretina; e na terceira geração a vitamina A é modificada, onde os representantes são os arotenoides (DINIZ, 2002).

A vitamina A possui atividade antioxidante. Entretanto, em algumas condições fisiológicas, esta pode exibir uma atividade pró-oxidante, formando espécies reativas de oxigênio e influenciando na incidência de vários tipos de câncer (GELAIN, 2008; OLINSKI, 2002; LOFT, 1996; KRYSTON, 2011). A vitamina A pode estar relacionada com alterações do ciclo celular, tais como a indução de apoptose e aumento de proliferação celular (GELAIN, 2008). O ácido retinóico atua sobre receptores intranucleares que agem como fatores de transcrição ligante-dependentes ativados por seus metabólitos e isômeros. A ativação dos receptores e o surgimento do

complexo retinoide-receptor levam a formação de moléculas capazes de se ligar às regiões regulatórias do DNA, modulando a expressão de genes relacionados com a proliferação e diferenciação celular, apoptose celular, transdução de sinais e metabolismo (DINIZ, 2002; VINHAL, 2014).

A isotretinoína, além de sua ação anti-inflamatória, tem se mostrado um promissor agente quimioterápico. O potencial dos retinoides no tratamento do câncer vem sendo cada vez mais estudado, em decorrência de sua capacidade de inibir a proliferação de células cancerosas e promover a diferenciação celular no tratamento de neoplasias (DINIZ, 2008). A vitamina A regula os receptores nucleares que suprimem a formação de tumores, induz a apoptose celular e melhora a função imune. Além disso, tem sido demonstrado que o ácido retinóico é responsável por regular negativamente marcadores de proliferação celular e fatores de crescimento inibindo o crescimento tumoral, angiogênese e metástase (ALIZADEH, 2014).

A abordagem mais abrangente das relações entre genotoxicidade e citotoxicidade de uma substância fornece informações mais ricas, auxiliando na identificação de danos potenciais ao DNA (BOLOGNESI, 2013; CARRARD, 2007; ROCHA, 2011). Estudos mostram que os mecanismos de genotoxicidade e citotoxicidade podem estar correlacionados entre si, e que a genotoxicidade excessiva pode levar à ocorrência de eventos citotóxicos. Esse processo é descrito também como um importante fator na carcinogênese, perante a eliminação de células com dano genético. Portanto, é necessária a realização do biomonitoramento humano de populações que possam estar em contato com mutágenos que levem à ocorrência de danos cromossômicos, como alterações que apontem citotoxicidade (MEIRELES, 2006; ZHANG, 2002). Considerando que a isotretinoína possa estar associada a eventos carcinogênicos, embora esta ação não esteja suficientemente descrita e comprovada, faz-se necessária a investigação dos possíveis efeitos genotóxicos e citotóxicos decorrentes de sua utilização.

Assim, o presente trabalho visa identificar se o uso da isotretinoína acarreta ação genotóxica e citotóxica por meio da realização do teste de micronúcleos e alterações nucleares em mucosa oral, bem como pesquisa de micronúcleos em

linfócitos do sangue periférico de pacientes que utilizam isotretinoína ou foram expostos ao uso.

METODOLOGIA

Durante o estudo, com duração de 1 ano, participaram 36 voluntários do sexo feminino e masculino (26 mulheres e 10 homens), selecionados na cidade de Curitiba (PR), com faixa etária entre 18 e 34 anos, distribuídos em diferentes grupos amostrais. O número amostral representa os indivíduos localizados que concordaram em participar da pesquisa e que possuíam as características necessárias para não serem descartados pelos critérios de exclusão. Não houve a separação entre os indivíduos feminino e masculino nestes grupos uma vez que, segundo Bonassi *et al* (1995), as mulheres apresentam uma frequência espontânea de micronúcleos levemente maior que o masculino, mas ela se torna especialmente relevante quando se considera a relação com a idade. No presente trabalho, não foram considerados indivíduos com mais de 34 anos, para minimizar os efeitos relacionados a idade e menopausa. Além disso, a distribuição de ambos os gêneros nos grupos em tratamento, exposto e controle negativo minimizam um possível viés, diluindo os efeitos do desvio padrão na comparação entre estes.

O grupo controle negativo incluiu pacientes que não foram tratados com isotretinoína, composto por 13 voluntários. No grupo em tratamento foram considerados pacientes que estivessem utilizando o medicamento ou tivessem deixado de usá-lo nos últimos 6 meses (BORGES, 2011), composto por 8 voluntários. O grupo exposto compreendeu pacientes que terminaram o tratamento com isotretinoína há mais de 1 ano, sendo formado por 15 voluntários.

Previamente à coleta das amostras os participantes da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido como requisito obrigatório para serem incluídos no estudo.

Os voluntários receberam um questionário anônimo, cujas respostas foram analisadas e usadas como base para determinar os parâmetros de exclusão no estudo. Foram considerados como parâmetros de exclusão no estudo: gravidez, menores de 18 anos e acima de 40 anos, fumantes, usuários de bebidas alcoólicas por mais de duas vezes na semana, usuários de drogas, consumidores de chimarrão por mais de duas vezes na semana e usuários de aparelho ortodôntico.

As amostras utilizadas no estudo com mucosa oral foram obtidas através de raspagem com espátula de madeira descartável e foram coradas com Giemsa 2%, diluídas em PBS com pH 6,8 por 5 minutos.

Foram analisadas em teste cego 1000 células por amostra quanto a alterações nucleares correspondentes a danos genotóxicos – micronúcleos, *broken-egg* e células binucleadas - e danos citotóxicos - cromatina condensada, núcleo picnótico e cariorrexe - em microscópio óptico, em aumento de 400X a 1000X, conforme sugerido por Schmid (1975), Heddle (1983), Tolbert, Shy e Allen (1992) e Bolognesi (2013), com modificações. O sangue para avaliação dos linfócitos foi coletado a partir de punção digital e coradas com panótico (Newprov), segundo a metodologia proposta pelo fabricante. Foram analisados em teste cego 100 linfócitos por amostra, quanto à presença de micronúcleos, em microscópio óptico em aumento de 1000X.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Positivo (CEP-UP) com número CAAE 44747115.8.0000.0093.

Para a análise estatística foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis através do software livre Bioestat 5.3. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de micronúcleos tem sido apontado por diversos autores como um importante marcador de dano genotóxico (FLORES, 2008; HOLLAND, 2008; NOVAIS, 2014; STOPPER, 1997). O micronúcleo é um núcleo intracelular adicional, formado

Revista Saúde e Desenvolvimento | vol. 10, n.5 | julho - dez - 2016

quando ocorrem quebras cromossômicas por agentes clastogênicos ou falhas no fuso mitótico por agentes aneugênicos (CARRARD, 2007). O aumento da frequência de micronúcleos pode estar associado ao desenvolvimento de neoplasias (STOPPER, 1997), uma vez que os mecanismos envolvidos em sua formação podem provocar a possível deleção de genes supressores de tumor ou ainda de genes relacionados ao reparo do DNA, além da ativação de protooncogenes (MEIRELES, 2006; ROCHA, 2011). Embora este teste tenha sido originalmente proposto com a avaliação exclusiva da frequência de micronúcleos em células de tecidos com alto índice mitótico, Tolbert, Shy e Allen (1992) sugeriram que outras alterações nucleares potencialmente indicativas de dano genotóxico fossem incorporadas ao teste, como as alterações broken-egg e células binucleadas. Para a avaliação da citotoxicidade, pode-se utilizar a análise simultânea ao teste de micronúcleos de alterações nucleares presentes na apoptose, tais como cromatina condensada, núcleo picnótico e cariorrexe (CARRARD, 2007; ROCHA, 2011). As características morfológicas da apoptose podem ser diferenciadas em três fases. Na primeira fase, ocorre a condensação da cromatina, que é caracterizada por zonas paralelas de cromatina condensada. Na segunda fase, a cromatina sofre uma condensação irreversível com diminuição do núcleo o qual é intensamente corado – denominado núcleo picnótico. Na terceira fase, há fragmentação do núcleo com formação de pequenos corpos arredondados, denominada cariorrexe (BOLOGNESI, 2013; BLOOR, 1999; CARRARD, 2007; SILVA, 2005). Assim, os danos citotóxicos analisados – cromatina condensada, cariorrexe e núcleo picnótico – são utilizados para qualificar a apoptose, visto que são alterações que ocorrem durante esse processo (MEIRELES, 2006; PROCHNOW, 2004; ROCHA, 2011). A apoptose é descrita como um processo de morte celular que é próprio do epitélio em renovação sendo que também ocorre em células danificadas ou expostas a um agente genotóxico (MEIRELES, 2006; BLOOR, 1999; HUA, 2000).

Estudos de exposição utilizando seres humanos como biomarcadores possuem intrinsecamente uma dificuldade no que se refere ao controle de variáveis que possam interferir com os resultados observados. Diversos fatores biológicos (idade, gravidez, menopausa) (NOVAIS, 2014), hábitos e estilo de vida (fumo, uso abusivo do álcool, drogas, consumo de chimarrão) (NOVAIS, 2014; FERIGOLO, 2013;

ALBAS, 2014) e uso de aparelho ortodôntico (NOVAIS, 2014, p.8) podem aumentar a frequência de micronúcleos. Por essa razão o presente estudo considerou tais variáveis como critério de exclusão, visando certificar-se de que quaisquer resultados encontrados pudessem ser, de fato, associados ao uso da isotretinoína. Entretanto, os resultados obtidos a partir da comparação entre os danos genotóxicos totais, considerando as alterações micronúcleo, broken-egg e células binucleadas, entre os grupos controle negativo, em tratamento e grupo exposto não demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$). O mesmo foi observado quando comparados os diferentes tipos de danos entre e dentro dos grupos (Tabela 1).

Tabela 1 -comparação de danos genotóxicos totais na mucosa oral

DANOS GENOTÓXICOS NA MUCOSA ORAL	MEDIANA	VARIANCIA (σ^2)
CONTROLE NEGATIVO		
Micronúcleo	2,00	4,09
Broken-Egg	0,00	0,08
Binucleada	2,00	2,02
Danos genotóxicos totais	5,00	8,93
GRUPO EM TRATAMENTO		
Micronúcleo	2,50	6,55
Broken-Egg	0,00	0,21
Binucleada	0,50	4,27
Danos genotóxicos totais	4,00	7,43
GRUPO EXPOSTO		
Micronúcleo	2,00	4,41
Broken-Egg	0,00	0,07
Binucleada	0,00	2,21
Danos genotóxicos totais	5,00	6,00

Fonte: própria.

Estes resultados foram observados tanto para o grupo com indivíduos em tratamento quanto para os expostos anteriormente. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo utilizando linfócitos como bioindicadores, uma vez que, de forma semelhante, não foi possível observar diferenças significativas na comparação entre os resultados de todos os grupos (Tabela 2).

Tabela 2 – comparação da frequência de micronúcleos em sangue periférico

DANOS GENOTÓXICOS NO SANGUE PERIFÉRICO	MÉDIANA	VARIANCIA (σ^2)
CONTROLE NEGATIVO		
Micronúcleo	0,00	0,20
GRUPO EM TRATAMENTO		
Micronúcleo	0,00	0,20
GRUPO EXPOSTO		
Micronúcleo	0,00	0,38

Fonte: própria.

Estes resultados concordam com trabalhos anteriores que também não encontraram efeitos genotóxicos resultantes do uso de ácido retinóico. Watanabe e Pratt (1991) analisaram o efeito genotóxico dos retinoides na cultura de células embrionárias mesenquimais de palato humano, e constataram que os retinoides inibiram a proliferação destas células sem causar danos ao DNA. Da mesma forma, Trizna *et al.* (1993) observaram o efeito anticlastogênico do ácido-13-cis retinóico na linhagem celular de linfoblastos e em culturas primárias de linfócitos tratados com bleomicina. Silva *et al.* (2013) utilizaram o teste de micronúcleos por bloqueio de citocinese e ensaio cometa em sangue periférico de pacientes com acne tratados com isotretinoína em estudos *in vivo*, paralelamente ao estudo *in vitro* de sangue de indivíduos não tratados incubados com isotretinoína em diferentes concentrações. Não foram, no entanto, observados danos associados à genotoxicidade, de forma semelhante ao estudo conduzido no presente trabalho. Entretanto, Sartore *et al.* (2011) verificaram que a diferenciação neural induzida pelo ácido retinóico em células tronco pluripotentes foram acompanhadas pelo aumento da ocorrência de micronúcleos. No presente estudo, a possível citotoxicidade da isotretinoína foi investigada a partir da análise da frequência de células em apoptose encontradas na mucosa oral dos indivíduos divididos nos grupos controle negativo, em tratamento e exposto. Na comparação dos danos citotóxicos dentro de cada grupo a frequência

de cromatina condensada apresentou diferença significativa quando comparada a cariorrexe e núcleo picnótico ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 – comparação de danos citotóxicos totais na mucosa oral

DANOS CITOTÓXICOS NA MUCOSA ORAL	MÉDIA	VARIÂNCIA (σ^2)
CONTROLE NEGATIVO		
Cromatina Condensada *	4,00	8,52
Cariorrexe	0,00	2,77
Núcleo Picnótico	0,00	2,74
Danos citotóxicos totais ^a	4,00	17,47
GRUPO EM TRATAMENTO		
Cromatina Condensada *	6,50	23,27
Cariorrexe	1,50	1,98
Núcleo Picnótico	1,50	1,12
Danos citotóxicos totais ^b	9,00	33,55
GRUPO EXPOSTO		
Cromatina Condensada*	4,00	6,67
Cariorrexe	0,00	0,54
Núcleo Picnótico	0,00	1,40
Danos citotóxicos totais ^a	4,00	10,67

^{a,b}: letras diferentes refletem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

*: alteração significativa mais frequente dentro do grupo ($p < 0,05$).

Fonte: própria.

O aumento de cromatina condensada em relação aos demais danos citotóxicos em todos os grupos é indicativo do início do processo apoptótico, o que sugere uma citotoxicidade mais recente, não cumulativa ao uso do medicamento.

Na análise dos danos citotóxicos entre grupos, observou-se que os danos totais do grupo em tratamento foi significativamente maior do que os observados no grupo controle e no grupo exposto ($p < 0,05$) enquanto não foi possível observar qualquer aumento da citotoxicidade na comparação entre o controle negativo e grupo exposto (Tabela 3). Neste grupo em tratamento as células estão expostas a isotretinoína, que pode induzir a morte celular como mecanismo primário (SILVA, *Revista Saúde e Desenvolvimento* | vol. 10, n.5 | julho - dez - 2016

2013), ou ainda ser secundária ao processo de manutenção da homeostase do organismo ao eliminar células com dano genético. Esse processo pode mascarar o potencial genotóxico de um agente pela citotoxicidade associada (MEIRELES, 2006).

A apoptose induzida pela isotretinoína também foi observada por Silva *et al.* (2013) em estudo *in vitro* com linfócitos. Este mesmo efeito citotóxico foi demonstrado por Nelson *et al.* (2006) em cultura de sebócitos, no qual o ácido 13-cis retinóico induziu a apoptose e parada do ciclo celular. Frota Jr. *et al.* (2006) realizaram uma pesquisa com cultura de células de Sertoli de ratos Wistar analisando o potencial antioxidante do ácido retinóico pela metodologia de TRAP (Total Reactive Antioxidant Potential Parameter), e observaram o aumento da quimioluminescência em altas doses de ácido retinóico, proporcionalmente à geração de espécies reativas de oxigênio. As espécies reativas de oxigênio podem causar peroxidação lipídica, de proteínas e ácidos nucleicos, e promover citotoxicidade ocasionando a morte celular (GIMENO, 2004; ARUOMA, 1998; HERNANDES, 2013; FROTA JUNIOR, 2006)

Estes resultados podem aventar possíveis mecanismos para a citotoxicidade encontrada no presente trabalho, uma vez que tratam-se de artifícios conhecidos da indução de genotoxicidade, o que poderia sugerir uma ação genotóxica suficientemente ampla para resultar na citotoxicidade observada na mucosa oral. De fato, na mucosa oral o micronúcleo é formado nas células da camada basal que contém as células tronco, responsáveis por um sistema de renovação celular contínuo. As células-filhas geradas migram em direção à superfície ocupando o lugar das células esfoliadas (BOLOGNESI, 2013; NOVAIS, 2014; SILVA, 2005; HOLLAND, 2008). Dessa forma, o micronúcleo encontrado na célula esfoliada pode representar um dano genotóxico ocorrido durante a mitose das células na camada basal (NOVAIS, 2014; SILVA, 2005). Portanto, os danos gerados são mantidos ao longo das divisões celulares, de modo que este pode ser resultante de uma exposição antiga ao agente genotóxico. Nos linfócitos, a formação dos micronúcleos ocorre durante a divisão celular das células tronco da linhagem linfóide na medula óssea, de forma que o linfócito circulante expressa o dano genotóxico ocorrido no momento da mitose e não após a diferenciação celular (FENECH, 1997).

Assim, em decorrência da via sugestiva de genotoxicidade dos estudos anteriormente realizados com a isotretinoína, os resultados obtidos sugerem que há um efeito citotóxico agudo, possivelmente secundário a danos genotóxicos graves, mas não resultante de danos cumulativos no DNA após a exposição a isotretinoína na mucosa oral. Isso porque não foi possível observar qualquer aumento da citotoxicidade na comparação entre o controle negativo e grupo exposto (Tabela 3).

CONCLUSÃO

No presente trabalho constatou-se que a isotretinoína não apresenta efeito genotóxico na mucosa oral e em linfócitos de indivíduos em tratamento ou expostos à retinoide, nas condições testadas. Porém, verificou-se efeito citotóxico na mucosa oral de indivíduos em tratamento com isotretinoína. Isso sugere que a isotretinoína não seja responsável por causar danos genotóxicos, ou que a citotoxicidade aguda desta no momento de uso impeça a permanência de possíveis células danificadas.

REFERÊNCIAS

ALBAS, CS *et al.* **Avaliação da genotoxicidade da *Ilexparaguariensis* (erva mate) pelo teste do micronúcleo.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Campinas, v.16, n.2, p.345-349, 2014.

ALIZADEH, Fatemehet *al.* **Retinoids and their biological effects against cancer.** International Immunopharmacology, [S.l], v. 18, p. 43-49, 2014.

ARUOMA, Okezie I. **Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease.** Journal of the American Oil Chemists' Society, [S.l.], v.75, n.2, p.199-212, 1998.

AYRES, M *et al.* **BIOESTAT 5.0** – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Instituto Mamirauá. 2007.

BLOOR, Balvinder K *et al.* **Quantitative assessment of apoptosis in oral lichen planus.** Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology, [S.l.], v.88, n.2, p.187-195, aug/1999.

BOLOGNESI, Claudia *et al.* **The HUMNXI scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay** – An update and expanded photogallery. Mutation Research. [S.l.], v.753, n. 2, p.100-113, out-dez/2013.

BONASSI, Stefano *et al.* **Influence of sex on cytogenetic end points: evidence from a large human sample and review of the literature.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 4(6):671-9, sep/1995.

BORGES, Mirela Bernardina *et al.* **Avaliação laboratorial do perfil lipídico e testes de lesão hepatocelular em pacientes com acne vulgar sob uso de isotretinoína oral.** Revista Brasileira de Clínica Médica, Maceió, v. 9, n. 6, p. 397-402, nov/2011.

Brasil. Ministério da Saúde. **Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas.** Brasília, v. 1, p. 1-610, jul/2010.

BRENNER, Fabiane Mulinari *et al.* **Acne: Um tratamento para cada paciente.** Revista de Ciências Médicas, Campinas, v. 15, n. 3, p. 257-166, out/2005.

CAJUEIRO, Elky de Souza; LIMA, Letícia Bringel Ribeiro; PARTATA, Anette Kelsei. **Isotretinoína e suas propriedades farmacológicas.** Revista Científica do ITPAC, Araguaína, v. 7, n.1, Não paginado, jan/2014.

CARRARD, Vinicius Coelho *et al.* **Teste dos micronúcleos** – Um biomarcador de dano genotóxico em células descamadas da mucosa oral. Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre. Porto Alegre, v. 48, n. 1/3, p. 77-81, jan-dez/2007.

DINIZ, Danielle Guimarães Almeida. **Obtenção, caracterização e avaliação da citotoxicidade sobre células neoplásicas da isotretinoína encapsuladas em lipossomas e nanocápsulas poliméricas.** 177 f. Tese (Pós Graduação em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

DINIZ, Danielle Guimarães Almeida; LIMA, Eliana Martins; ANTONIOSI FILHO, Nelson Roberto. **Isotretinoína:** perfis farmacológico, farmacocinético e analítico. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, [São Paulo], v. 38, n. 4, p. 415-430, out-dez/2002.

FENECH, Michael; PEREPTSKEYA G; MIKHALEVICH, Ludmila. **A more comprehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations** - experiences from the chernobyl catastrophe. Environmental and Molecular Mutagenesis, [S.l.], v.30, p.112-118, 1997.

FERIGOLO, Paola Cristine; SAGRILLO, Michele Rorato. **Genotoxicidade relacionada ao consumo de chimarrão.** *DisciplinarumScientia*. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v.14, n.1, p.1-13, 2013.

FLORES, Mônica; YAMAGUCHI, Mirian Ueda. **Teste do micronúcleo:** Uma triagem para avaliação genotóxica. Revista Saúde e Pesquisa. [S.l.], v.1, n. 3, p. 337-340, set-dez/2008.

FROTA JUNIOR, Mario Luiz Conte *et al.* **All-trans retinoic acid induces free radical generation and modulate antioxidant enzyme activities in rat sertoli cells.** Molecular and Cellular Biochemistry, [S.l.], v.285, p.173-179, 2006.

GELAIN, Daniel Pens. **Sinalização não-genômica do retinol mediada por espécies reativas.** 68 f. Tese (Doutorado em Bioquímica), Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre, 2008.

GIMENO, Amparo *et al.* **Retinol, at concentrations greater than the physiological limit, induces oxidative stress and apoptosis in human dermal fibroblasts.** Experimental Dermatology, [S.l.], v.13, p.45-54, 2004.

GURBUZ, Asliet *al.* **Colloidal carriers of isotretinoin for topical acne treatment: skin uptake, ATR-FTIR and in vitro cytotoxicity studies.** Archives of Dermatology Research, Berlin, v. 307, p. 607-615, abr/2015.

HEDDLE, JA *et al.* **The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity** – A report of the U. S. Mutation Research, [S.l.], v. 123, p. 61-118, 1983.

HERNANDES, Livia Cristina. **Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade, antigenotoxicidade e expressão dos genes iNos e COX-2 em ratos tratados com a polpa do fruto de *Solanum sessiliflorum* Dunal.** Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

HOLLAND, Nina *et al.* **The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps.** Mutation Research, [S.l.], v.659, p.93-108, abr/2008.

HUA, Zhang Jian; XU, Ming. **DNA fragmentation in apoptosis.** Cell Research, [S.l.], v.10, p.205-211, 2000.

KRYSTON, Thomas *et al.* **Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis,** Mutation Research, [S.l.], p. 193-201, jan/2011.

LOFT, S; POULSEN, HE. **Cancer risk and oxidative DNA damage in man.** Journal of Molecular Medicine. [S.l.], p. 297-312, fev/1996.

MEIRELES, José Roberto Cardoso *et al.* **Apoptose em células esfoliadas da mucosa bucal de indivíduos ocupacionalmente expostos a agentes mutagênicos e carcinogênicos.** Revista Brasileira de Cancerologia. [S.l.], v. 52, n. 4, p. 337-343, jun/2006.

NASCIMENTO, Carolina Ribas do *et al.* **Recidiva de acne após tratamento com isotretinoína oral: seguimento de cinco anos.** Surgical & Cosmetic Dermatology, Bauru, v. 3, n. 3, p. 188-191, set/2011.

NELSON, Amanda M *et al.* **13-cis retinoic acid induces apoptosis and cell cycle arrest in human SEB-1 sebocytes.** Journal of Investigative Dermatology, [S.l.], v.126, p.2178-2189, 2006.

NOVAIS, Anita Raquel dos Santos. **Micronúcleos das células esfoliadas da mucosa oral como potencial biomarcador oncológico.** 32 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária), Universidade do Porto, Porto, 2014.

OLINSKI, Ryszard, *et al.* **Oxidative DNA damage: Assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis and acquired immunodeficiency syndrome.** *Free Radical Biology & Medicine*, [S.l.], v. 33, n. 2, p. 192-200, abr/2002.

OLIVEIRA, Henrique Telles Ramos de. **Efeito da isotretinoína no reparo de defeitos ósseos em calota craniana – estudo em ratos.** 105 f. Tese (Doutorado em Odontologia), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PROCHNOW, Taísa Aozani. **Avaliação de apoptose em cultura de linfócitos humanos periféricos expostos à rapamicina.** 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas: Nefrologia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

ROCHA, Rodrigo dos Santos. **Avaliação do uso do teste de micronúcleo em células esfoliadas como biomarcador para o desenvolvimento do câncer oral em usuários de bebidas alcoólicas e anti-sépticos bucais.** 69 f. Dissertação (Pós graduação em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2011.

RODRIGUES, Maria Alexandra Leão de Magalhães. **Evolução do consumo de retinoides desde 2000 a 2013 em Portugal.** 37 f. Dissertação (Mestrado em Medicina), Universidade do Porto, Porto, 2015.

SARTORE, Rafaela C *et al.* **Retinoic acid-treated pluripotent stem cells undergoing neurogenesis present increased aneuploidy and micronuclei formation.** *PLoS ONE*, [S.l.], v.6, n.6, p.1-10, jun/2011.

SCHIMID, W. **The micronucleus test.** *Mutation Research*, [S.l.], v. 31, n. 1, p. 9-15, 1975.

SILVA, Ana Elisa. **Quantificação de alterações nucleares nas células epiteliais esfoliadas da mucosa da língua associadas à radiografia panorâmica e análise do padrão de qualidade deste exame.** 103 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SILVA, FSG *et al.* **The in vitro and in vivo genotoxicity of isotretinoin assessed by cytokinesis blocked micronucleus assay and comet assay.** *Toxicology in Vitro*, [S.l.], v.27, p.900-907, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. **Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil.** Anais Brasileiros de Dermatologia, Brasil, v. 81, n. 6, p. 549-558, dez/2006.

STOPPER, H; MULLER, SO. **Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: A minireview.** Toxicology in Vitro, [S.l], v.1, p.661-667, 1997.

TOLBERT, Paige E; SHY, Case M; ALLEN, James W. **Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development.** Mutation Research, [S.l], v.271, p.69-77, 1992.

TRIZNA, Zoltán et al. **Anticlastogenic effects of 13-cis-retinoic acid in vitro.** European Journal of Cancer, [S.l], v.29, n.1, p.137-140, 1993.

VINHAL, Daniela Cristina et al. **Terapia retinoide na acne vulgar.** Revista Eletrônica de Farmácia, [S.l], v. IX, n. 3, p. 80-101, Jan/2014. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/4509/2/27721-135808-1-PB.pdf>>. Acesso em: 18/03/2015.

WATANABE, Toshiaki; PRATT, Robert M. **Influence of retinoids on sister chromatid exchanges and chromosomes in cultured human embryonic palatal mesenchymal cells.** Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis, [S.l], v.11, n.6, p.297-304, 1991.

ZHANG, Jianhua; XU, Ming. **Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis.** TRENDS in Cell Biology. [S.l], v. 12, n. 2, p.84-89, fev/2002.