

Efeito modulador do Roacutan® (isotretinoína) sobre a carcinogenicidade da doxorubicina, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*

Modulation effect of Roacutan® (isotretinoin) on the carcinogenicity of doxorubicin, measured through the test for detection of tumor clones in Drosophila melanogaster

Amanda A. de Oliveira Rocha

Graduanda do curso de Medicina (UNIPAM).

E-mail: amanda_oliveirarocha@live.com

Gabriel Calixto Barbosa Alves

Graduando do curso de Medicina (UNIPAM).

E-mail: gabriel_calixto1993@hotmail.com

Priscila Capelari Orsolin

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: priscilaco@unipam.edu.br

Resumo: O Roacutan® (isotretinoína) é um composto sintético do ácido all-trans-retinoico, análogo à vitamina A. Atualmente utilizado para tratamentos das formas graves da acne, age diminuindo a atividade glandular e produção sebácea, a hiperqueratinização folicular e o processo inflamatório. O objetivo deste estudo foi avaliar possíveis efeitos carcinogênicos e/ou anticarcinogênicos do Roacutan® através do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. Os resultados mostraram que o Roacutan® apresentou atividade anticarcinogênica, visto que houve diferença, estatisticamente significativa ($p < 0,05$), na frequência de tumores identificados com a presença da referida substância em todas as concentrações testadas (7,5; 15 e 30µg/mL), quando comparado à frequência de tumores no controle positivo (DXR). Também apresentou atividade tumoral na maior concentração testada (30µg/mL). Sendo assim, é possível dizer que, nas presentes condições experimentais, o Roacutan® apresentou efeito modulador sobre danos induzidos pela DXR, reduzindo a frequência de tumores em situações de co-tratamento com a DXR, mas com efeito carcinogênico quando tratado sozinho, em altas concentrações.

Palavras-chave: Roacutan®. Efeito modulador. *Drosophila melanogaster*.

Abstract: Roacutan® (isotretinoin) is a synthetic compound from all-trans-retinoic acid, the vitamin A analogue. Currently used to severe acne treatment, it acts decreasing the sebaceous glands activity and sebum production, follicular hyperkeratinization and the inflammatory process. The objective of this study was to investigate the potential carcinogenicity effect and/or anticarcinogenic effect of Roacutan® through the test for detection of tumor clones (warts) in

Drosophila melanogaster. The results indicated that Roaccutane® leads to anticarcinogenic activity since there was statistical significance in tumor-frequency, identified using the related substance (concentration 7,5; 15 and 30 µg/mL), as compared to tumor frequency in positive control (DXR). Further, it demonstrated tumor-induced at highest concentration used (30µg/mL). As a result, it is possible to affirm, in this current testing condition, Roaccutane® leads to modulation effect over DXR- induced damages, decreasing tumor frequency, in DXR co-treatment, but with carcinogenic effect, as single treatment, at high concentration.

Keywords: Roaccutane®. Modulation effect. *Drosophila melanogaster*.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, considerado o problema de pele mais comum em todo o mundo, a acne pode trazer efeitos psicológicos prejudiciais para os pacientes, o que, consequentemente, aumenta a procura por tratamentos mais precisos para a doença. Cerca de 85% a 100% da população mundial apresentará a acne em algum momento da vida, sendo de 12 a 24 anos a faixa etária mais prevalente e as mulheres mais acometidas, em comparação ao homem, em idade até 45 anos (FIGUEIREDO *et al.*, 2011). A utilização de tratamentos farmacológicos para os casos de acne vulgar vem crescendo de maneira significativa desde a década de 1960, quando a eficácia de novos produtos tópicos foi descoberta para esse fim (SAMPAIO; BAGATIN, 2008).

Segundo sua tipologia, a acne pode ser classificada clinicamente de diversas formas, como: vulgar, conglobata, fulminante, comedonica, pápulo-pustuloso grave, nódulo-quisto, entre outras. Além disso, a acne também pode ser classificada quanto ao seu grau de acometimento ou evolução clínica, como: não inflamatória ou comedoniana, de grau leve, moderado ou grave. Geralmente, apresenta-se de forma autolimitada, inferindo-se que sua etiopatologia deve-se à interação dos seguintes fatores: hiperprodução de sebo glandular, hiperqueratinização folicular, colonização bacteriana do folículo sebáceo e liberação de mediadores da inflamação no folículo e derme adjacente. Além disso, a hereditariedade, alterações hormonais, uso de medicamentos, cosméticos, alimentação rica em gordura e estresse podem também predispor o surgimento da acne (MANFRINATO, 2009).

Conquanto existam diversas formas de tratamento para a acne, até o momento, ainda há dificuldade para se estabelecer uma conduta específica para as diferentes formas da doença. Isso se deve à falta de embasamento teórico científico sobre o assunto, não existindo estudos comparativos suficientes para evidenciar a boa qualidade dos fármacos, seus potenciais riscos e efeitos adversos (COSTA; BAGATIN, 2013).

A isotretinoína é o único medicamento oral eficaz para o tratamento dos tipos mais graves da acne, uma vez que elimina todos os fatores fisiopatológicos da doença. Descoberto em 1955 e introduzido no Brasil na década de 1980, o fármaco atua inibindo o tamanho e a função de glândulas sebáceas e, consequentemente, o aparecimento das lesões cutâneas ocasionadas pelo acúmulo do sebo (SAMPAIO; BAGATIN, 2008).

No Brasil, o Roacutan® é usado restritamente ao tratamento dermatológico de *acne vulgaris*, enquanto que, em outros países, como os Estados Unidos, seu uso estende-se ao tratamento de lesões neoplásicas como câncer de células basais, câncer de

células escamosas e linfoma de células T (DINIZ; LIMA; ANTONLOSI, 2002). Avaliando-se os riscos e benefícios do medicamento, ele ainda representa um avanço no tratamento da acne, até mesmo em suas formas mais graves. Entretanto, deve-se observar que o monitoramento rigoroso de certas condições adversas presentes torna-se indispensável para o tratamento seguro e satisfatório com tal fármaco (GOUVÊA; SILVA JÚNIOR, 1999).

Os efeitos sistêmicos mais conhecidos do Roacutan® incluem o ressecamento da pele e membranas mucosas, distúrbios do sistema musculoesquelético (mialgia, artralgia, lombalgia, artrite, calcificação dos ligamentos), distúrbios do sistema nervoso central e psiquiátricos (cefaleia, aumento da pressão intracraniana, convulsões, depressão) e distúrbios hepáticos e biliares (elevações transitórias e reversíveis de transaminases hepáticas, hepatite), entre outras alterações respiratórias, sensoriais e gastrointestinais (BRITO *et al.*, 2010).

Diante desse contexto, é válido ressaltar que, apesar da valiosa contribuição para o controle de muitas doenças, a incorporação de medicamentos à prática médica produz também efeitos indesejáveis, entre os quais a carcinogênese. A vulnerabilidade do material genético (DNA) às agressões impostas pelo ambiente motivou um aumento no número de estudos sobre as alterações induzidas por diversas substâncias químicas, físicas e biológicas e sobre os possíveis agentes causadores das mesmas, que podem ser de diferentes origens, incluindo os medicamentos (BRAMBILLA; MARTELLI, 2009). As alterações decorrentes dessas interações geram, cada vez mais, preocupação quanto à adoção de medidas de proteção das futuras gerações. Nesse contexto, testes genéticos têm-se mostrado bastante úteis no rastreamento de agentes capazes de induzir danos ao DNA, bem como estabelecer possibilidades de proteção ou redução desses efeitos.

O efeito carcinogênico e/ou anticarcinogênico do Roacutan® é uma das questões mais discutidas entre especialistas e pesquisadores da área. Porém, não há, ainda, evidências científicas suficientes para declarar as teorias do efeito do medicamento, uma vez que seu mecanismo de ação e atuação no organismo humano ainda não está totalmente estabelecido. Seu uso, então, restringe-se à opinião de especialistas, muitos dos quais declaram conflitos de interesses potencialmente relevantes (COSTA; BAGATIN, 2013). Diante do exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo principal de avaliar o efeito do Roacutan® (isotretinoína) sobre o DNA celular, elucidando sua influência sobre a proteção e/ou indução de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*.

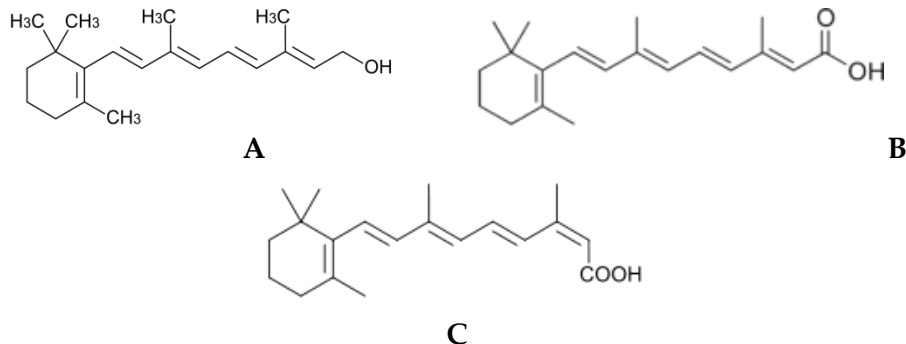
2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AGENTES QUÍMICOS

2.1.1 Roacutan®

O Roacutan® (isotretinoína) é um composto sintético do ácido *all-trans-retinoico* (tretinoína), análogo à vitamina A. Sua forma ácida é obtida através da oxidação do grupo álcool da vitamina A, com todas as quatro ligações duplas na cadeia lateral na configuração *trans* (Figura 1) (ROBERTSON; MAIBACH, 2005).

Figura 1. Estruturas químicas. **A.** Vitamina A (retinol); **B.** Ácido retinoico; **C.** Isotretinoína.



Fonte: Zanotto Filho, (2009).

O mecanismo de ação do ácido retinoico é obtido a partir da ligação com receptores específicos, que podem apresentar dois tipos: o receptor de ácido retinoico (RAR) e o receptor de retinoide X (RXR). Eles atuam como fatores de transcrição ligante-dependentes, modulando a expressão dos genes. *All-trans-retinoico* liga-se ao RAR e 9-*cis*-retinoico ao RAR e RXR. A isotretinoína não interage com nenhum dos receptores, entretanto, *in vivo*, transforma-se espontaneamente a *all-trans* e 9-*cis*-retinoico e, portanto, ativa indiretamente ambos receptores (LAM *et al.*, 2001).

Devido à capacidade de controlar a diferenciação e proliferação celular, tem-se evidenciado o interesse em estudar o efeito do ácido retinoico sobre a carcinogênese (SEMENIUK *et al.*, 2001). Sua ação anti-neoplásica foi verificada pela primeira vez em um estudo sobre carcinoma pulmonar experimental em ratos, ainda na década de 60 (GÜZEY *et al.*, 1998). Desde então, inúmeros estudos em cultura de células ou modelo animal vêm confirmando esse efeito. Além disso, uma variedade de ensaios clínicos tem avaliado a atividade do ácido retinoico em doenças hematológicas (CASTAIGNE *et al.*, 1990) e tumores epiteliais (LIPPMANN; MEYSKENS, 1987; SHIN *et al.*, 2002).

Atualmente utilizado para tratamentos das formas graves da acne, o Roacutan® age de maneira a diminuir a atividade glandular sebácea, sendo seu efeito eficaz decorrente da diminuição ou até eliminação da produção sebácea, hiperqueratinização folicular e processo inflamatório (OLIVEIRA, 2009).

Entretanto, segundo a ANVISA (1998), no Parecer sobre Medicamentos Retinoides - Versão Final, aprovado na CONATEM, o uso desse tipo de medicamento é de preocupação nacional, devido aos seus riscos eminentes ainda não bem estabelecidos. Diz-se que

os medicamentos sistêmicos derivados de retinoides estão, hoje, entre os produtos de maior risco de teratogênese existentes no mercado, pela combinação de sua alta teratogenicidade inerente ao produto, com indicações suscetíveis de ampliação abusiva. Como são altamente eficazes em condições clínicas sem alternativas terapêuticas, eles permanecem no

mercado apresentando um desafio permanente para a regulamentação e a qualidade da atenção médica (ANVISA, 1998, p. 1).

2.1.2 Doxorrubicina

O antibiótico Adriblastina®, também chamado de doxorrubicina (DXR), pertence à classe das antraciclinas, com obtenção a partir da fermentação do fungo *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. A DXR é ativa durante todo o ciclo celular, incluindo a intérfase, provocando efeitos antiproliferativos nos tecidos tumorais e também em outros tecidos sensíveis como a medula óssea, a mucosa gastrintestinal e oral, os folículos capilares, dentre outros. A DXR afeta a integridade do material genético, originando lesões celulares irreparáveis, sob forma de neoplasias, ou seja, é capaz de afetar a integridade do material genético, sendo identificado por seu potencial genotóxico (SILVA; CAMACHO, 2005). Por suas características, a DXR foi escolhida para ser utilizada como controle positivo nesta pesquisa.

A ampola (de 50mg) utilizada foi fabricada e embalada por Actavis Haly S.p.A – Nerviano, Milão – Itália. Registro MS – 1.0216.0165.002-4. Produzido pelo laboratório Pfizer.

2.3 TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMORES EPITELIAIS (WARTS), EM *Drosophila melanogaster*

A *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como a “mosca da fruta”, possui aproximadamente 2mm de comprimento e é bastante utilizada em estudos laboratoriais genéticos. Essa utilização decorre do fato de que essas moscas possuem um curto período de vida, podendo completar o ciclo de vida em dez dias (SNUSTAD; SIMMONS, 2001). A manutenção laboratorial à temperatura ambiente e as poucas exigências nutricionais e de espaço de cultura, aliadas ao fato da morfologia desse organismo ser facilmente observável, tornam esse inseto um modelo adequado à pesquisa. Pertencente à ordem Díptera, a *Drosophila melanogaster* é eucarionte e possui 8 pares de cromossomos, sendo um par sexual (GOMES, 2001).

Além da facilidade de manuseio das *D. melanogaster*, elas possuem características homólogas com o organismo humano. Conquanto possuam pouco mais de um terço da quantidade de genes encontrados na espécie humana, a maioria é equivalente para ambas, principalmente em genes supressores de tumor (MIKLOS; RUBIN, 1996). O gene *warts* (*wts*), homólogo ao supressor de tumor LATS1, em mamíferos, é um exemplo dessa semelhança (EEKEN *et al.*, 2002).

Cruzando indivíduos de *D. melanogaster* que diferem em características facilmente visíveis e estendendo essa análise aos seus descendentes, é possível determinar, ao fim de um mês, quantos genes estão envolvidos, quais os alelos dominantes e os recessivos e se o padrão de herança está, ou não, ligado ao sexo (GOMES, 2001). Indivíduos heterozigotos para as mutações em *warts* produzem tumores epiteliais claramente visíveis, enquanto as mesmas mutações são letais para os homozigotos (EEKEN *et al.*, 2002).

Por possuírem um ciclo celular semelhante aos das células de mamíferos, além dos genes homólogos referentes à regulação desse ciclo, os fatores indutores e protetores nessas células podem ter relação direta com fatores relacionados ao câncer em humanos. A importância científica do uso da *Drosophila* é evidenciada com a descoberta de que cerca de 70% dos genes oncogênicos em humanos possuem correspondência nos genes da mosca (GRIFFITHS *et al.*, 2006).

2.3.1 Procedimento experimental

Duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* foram empregadas na realização desse teste: (1) Linhagem *wts*, portadora do marcador genético warts (*wts*, 3-100) e (2) Linhagem *multiple wing hairs* (*mwh*, 3-0,3) que possui o gene marcador *mwh* no cromossomo 3 numa posição mais distal. A linhagem *wts* foi gentilmente cedida pelo Bloomington *Drosophila* Stock Center, da Universidade de Indiana nos Estados Unidos (USA), registrado sob o número: Bloomington/7052. Já a linhagem *mwh/mwh* foi cedida pelo Dr. Ulrich Graf (Physiology and Animal Husbandry, Institute of Animal Science, ETH Zurich, Schwerzenbach, Switzerland).

Os estoques dessas linhagens são cultivados no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM e mantidos em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura de *Drosophila melanogaster* com 820 mL de água; 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*); 11g de ágar; 156g de banana e 1g de nipagin, à temperatura de 25°C e 60% de umidade.

Para obtenção de larvas heterozigotas *wts* *+/+* *mwh*, foi realizado o cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb¹*, com machos *mwh/mwh*. Após um período de 8 horas, os ovos descendentes do cruzamento citado foram depositados em frascos contendo meio de cultura próprio, contendo ágar e uma camada de fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) suplementado com sacarose.

Larvas de 3º estágio foram submetidas a um tratamento crônico, por um período de, aproximadamente, 48 horas. Metade dessas larvas foram colocadas em frascos de vidro, contendo 1,5g de purê de batatas instantâneo e 5mL de Roacutan® nas três diferentes concentrações testadas: 7,5; 15 e 30µg/mL. Para controle positivo, utilizou-se DXR (0,4 mM) e, para controle negativo, Tween 80 (1%).

Para avaliação de possíveis efeitos anticarcinogênicos do Roacutan®, foi realizado o tratamento com a DXR (concentração de 0,4 mM). Concomitantemente, essas larvas foram, também, tratadas com 5 mL das três concentrações diferentes de Roacutan® (co-tratamento). As moscas adultas foram coletadas e armazenadas em frascos identificados, contendo etanol a 70% e, posteriormente, analisadas quanto à presença de tumor.

Por fim, as diferenças estatísticas entre as frequências de tumores identificadas nas três concentrações testadas e os controles (positivo e negativo) foram calculadas utilizando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, empregando o nível de significância $\alpha=0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo os resultados apresentados na Tabela 1, é possível verificar a ocorrência e a frequência de tumores nos diferentes segmentos do corpo da *Drosophila melanogaster*, sendo elas, 0,04 para os indivíduos tratados com o controle negativo (Tween 80, 1%) e 1,04 para os tratados com o controle positivo (DXR (0,4 mM)). As larvas que foram submetidas apenas ao tratamento com o Roacutan® nas concentrações de 7,5µg/mL, 15µg/mL e 30µg/mL apresentam frequência tumoral de 0,05; 0,05 e 0,15, respectivamente.

Quanto às larvas tratadas com as menores concentrações de Roacutan® (7,5µg/mL e 15µg/mL), não foi observado aumento estatisticamente significativo ($p > 0,05$) na frequência de tumores, em relação ao controle negativo (Tween 80-1%). Entretanto, notou-se que as larvas tratadas isoladamente com a concentração de Roacutan® de 30µg/mL apresentaram um aumento na frequência de tumores estatisticamente diferente ($p < 0,05$), com relação do controle negativo, o que sugere que o Roacutan® induziu o aparecimento de tumores na maior concentração testada.

Tabela 1- Frequência de clones de tumores observados em *Drosophila melanogaster*, heterozigota para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas com doxorubicina e diferentes concentrações de Roacutan.

Tratamentos			Número de tumores analisados							Frequência (Nº de tumores/mosca)
Roacutan (µg/mL)	DXR (mM)	N. de moscas	Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halter	Total	
0	0	200	1	0	3	3	0	1	8	0,04
0	0,4	200	14	44	47	66	31	5	207	1,04 *
7,5	0	200	0	2	2	4	1	0	9	0,05 ns*
15	0	200	1	2	1	1	2	2	9	0,05 ns*
30	0	200	2	6	2	15	1	3	29	0,15 *
7,5	0,4	200	1	4	4	45	2	2	58	0,29 **
15	0,4	200	0	3	5	23	4	1	36	0,18**
30	0,4	200	1	0	2	22	2	0	27	0,14**

Diagnóstico estatístico de acordo com o Teste de Mann-Whitney Teste. Nível de significância $p \leq 0,05$

* Valor considerado diferente do controle negativo ($p \leq 0,05$).

** Valor considerado diferente do controle positivo (DXR 0,4 mM) ($p \leq 0,05$).

ns*, valores considerados não significativos, quando comparados com o controle negativo.

DXR, doxorubicina.

As larvas que foram tratadas com as concentrações de Roacutan® de 7,5µg/mL, 15µg/mL e 30µg/mL, juntamente com a doxorubicina (co-tratamento), apresentaram frequência de tumores de: 0,29, 0,18 e 0,14, respectivamente. Os três valores são considerados estatisticamente diferentes do controle positivo, DXR 0,4 mM ($p < 0,05$). Todas as concentrações testadas apresentaram frequência de tumores inferior ao controle positivo, o que demonstra que o Roacutan® apresentou efeito anticarcinogênico em *D. melanogaster*.

O Roacutan® vem sendo empregado na medicina para tratamentos das formas graves da acne (OLIVEIRA, 2009). Além disso, um importante efeito do ácido retinoico é a inibição da proliferação de células em divisão, e isso explica a sua consideração como agente anticancerígeno (CRANDALL *et al.*, 2004; ZANOTTO FILHO, 2009).

O ácido retinoico (Roacutan®) apresenta diversos efeitos sobre as células epiteliais, entre eles o efeito estabilizador dos ribossomos, a elevação da atividade da polimerase do RNA e dos níveis de prostaglandinas, além de um aumento da renovação celular, decorrente do incorporamento da timina ao DNA e da redução da coesão entre as células epidérmicas. O uso prolongado dos retinoides também pode promover a síntese de colágeno na derme, angiogênese e espessamento da epiderme (ROBERTSON; MAIBACH, 2005).

Sua eficácia é decorrente da sua ligação com receptores nucleares que permitem a estimulação da mitose e a renovação celular. Derivados da vitamina A, os retinoides exercem um papel central na modulação de diversos eventos celulares como proliferação, diferenciação e morte das células (GUDAS; SPORN; ROBERTS, 1994). A vitamina A promove a ativação de receptores nucleares que agem diretamente como fatores de transcrição. Com isso, sua principal ação é modular a expressão gênica e regular processos de diferenciação celular e o seu crescimento (CHAMBON, 1994). Os receptores ativados pertencem à família de receptores nucleares para hormônios esteroides, tireoidianos e da vitamina D, proporcionando inúmeros tipos de combinação, as quais podem regular diferentes genes e desencadear efeitos biológicos muito distintos (ZANOTTO FILHO, 2009).

Não bastasse isso, é reconhecido que a vitamina A, precursora do ácido retinoico, tem um importante papel protetor no crescimento normal do epitélio e importante atividade antioxidante, que modela receptores de fatores de crescimento da epiderme, aumentando sua atividade antiproliferativa (SILVA; CARDOSO; CANTISANO, 2004). Tal capacidade também poderia justificar a redução de tumores induzidos pela DXR na presente pesquisa. Sabe-se que o mecanismo de ação da doxorrubicina, substância utilizada como controle positivo, baseia-se na sua intercalação com a molécula de DNA e na geração de radicais livres (COSTA; TEIXEIRA; SCHNEIDER, 2004), efeito esse possivelmente suprimido (reduzido) pelo Roacutan® nas presentes condições experimentais.

Gimeno *et al.* (2004) relatam, ainda, que os retinoides podem atuar como antioxidantes, quando associados a outras substâncias com tais propriedades, ou ainda como pró-oxidantes, dependendo da concentração utilizada. Tal efeito também corrobora com o que foi observado na presente pesquisa, uma vez que os resultados demonstram que, embora o Roacutan® tenha apresentado efeito anticarcinogênico em todas as concentrações testadas, o medicamento apresentou atividade tumoral na concentração de 30µg/mL (maior concentração testada). Tal efeito, portanto, poderia decorrer de um possível efeito pró-oxidante nessa concentração, estimulando a produção de radicais livres, ao invés de inibi-la. Zanotto Filho (2009) confirma que, em elevadas concentrações, o retinol estimula um aumento no dano oxidativo, reduzindo a viabilidade celular.

Segundo Stone e Yang (2006), quando consideramos o efeito de agentes pró-oxidantes, o efeito proliferativo em certas doses e deletério em outras é perfeitamente

compreensível e tem sido demonstrado em uma série de experimentos, utilizando oxidantes clássicos.

Diante das mesmas perspectivas, Gimeno *et al.* (2004), ao avaliarem os efeitos dose-dependentes de retinoides em culturas de fibroblastos humanos, observaram que concentrações maiores que o limite fisiológico causavam danos nessas células, em função do aumento no processo oxidativo. A toxicidade observada após o uso de altas doses de vitamina A fez com que seu uso na prevenção do câncer seja limitado (SILVA; CARDOSO; CANTISANO, 2004).

Silva, Cardoso e Cantisano (2004) relatam que a isotretinoína parece ser efetiva na reversão das leucoplasias bucais. Entretanto, quando utilizada em altas doses, efeitos colaterais como secura da pele e mucosas, queilite, conjuntivite, hiperglicéridemia e efeitos teratogênicos são observados. Além disso, alguns estudos demonstram que o uso prolongado do medicamento pode aumentar o potencial carcinogênico da irradiação ultravioleta, uma vez que a descamação cutânea promove uma maior sensibilização da área (ROBERTSON; MAIBACH, 2005).

É pertinente ressaltar, entretanto, que os mecanismos exatos pelos quais o Roacutan® reduz danos induzidos pela DXR e pelos quais a concentração de 30µg/mL induziu o desenvolvimento de células tumorais na *D. melanogaster* não foram diretamente estudados no presente trabalho, o que sugere a necessidade de realização de novas pesquisas com esse propósito.

Nesse contexto, embora sejam evidentes os diversos efeitos sistêmicos benéficos e adversos associado ao uso do Roacutan®, percebe-se que não existem evidências científicas suficientes para comprovar os benefícios e a indicação do medicamento com propósito de quimioprevenção. Avaliando-se os riscos e benefícios do medicamento, ele ainda representa um avanço no tratamento da acne severa. Entretanto, deve-se observar que o monitoramento rigoroso de certas condições adversas presentes torna-se indispensável para o tratamento seguro e satisfatório com tal fármaco, seja no tratamento da acne ou com outras finalidades terapêuticas (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009).

4 CONCLUSÃO

O teste para a detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster* foi eficiente para identificar o potencial anticarcinogênico do Roacutan® nas concentrações de 7,5µg/mL, 15µg/mL e 30µg/mL, quando tratadas juntamente com a DXR nas presentes condições experimentais. Porém, ficou demonstrado que a concentração de 30µg/mL (maior concentração testada) apresentou atividade tumoral em *D. melanogaster*.

Sendo assim, é possível dizer que o Roacutan® possui efeito modulador sobre danos induzidos pela DXR, reduzindo a frequência de tumores em situações de co-tratamento com a DXR, mas com efeito carcinogênico quando tratado sozinho em altas concentrações. Tal resultado pode estar associado a um possível efeito antioxidante do Roacutan® quando co-tratado com a doxorrubicina e ao possível efeito pró-oxidante observado em concentrações elevadas (quando tratado isoladamente).

REFERÊNCIAS

ANVISA. *Parecer sobre medicamentos retinoides*. 1998. pp. 1- 4. Disponível em: < www.anvisa.gov.br/medicamentos/controlados/parecer_retinoides.doc>. Acesso em: 18 jan. 2014.

BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed *Pharmaceuticals*. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 681, p. 209-229, 2009.

BRITO, M. F. M.; GALINDO, J. C. S.; SANTOS, J.; SANT'ANNA, I. P.; ROSENDO, L. H. P. M. Avaliação dos efeitos adversos clínicos e alterações laboratoriais em pacientes com acne vulgar tratados com isotretinoína oral. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.85, n.3, p. 331-337, 2010.

CASTAIGNE, S.; CHOMIENNE, C.; DANIEL, M.T.; BALLERINI, P.; BERGER, R.; FENAUX, P. All-trans retinoic acid as a differentiation therapy for acute promyelocytic leukemia. *Clinical results. Blood*, v.76, p. 1704-1709, 1990.

CHAMBON, P. The retinoid signaling pathway: Molecular and genetic analyses. *Seminars in Cell e Developmental Biology*, v. 5, n. 2, p. 115-25, 1994.

CRANDALL, J.; SAKAL, Y.; ZHANG, J.; KOUL, O.; MINEUR, Y.; CRUSIO, W. E.; MCCAFFERY, P. 13-cis-retinoic acid suppresses hippocampal cell division and hippocampal-dependent learning in mice. *PNAS*, v.101, n14, 2004.

COSTA, C. S.; BAGATIN, E. Evidências sobre o tratamento da acne. *Diagnóstico e Tratamento*, v. 8, n.1, p. 11-14, 2013.

COSTA, L. A. L. da; TEIXEIRA, V. N.; SCHNEIDER, A. Estudo comparativo do possível efeito protetor da vitamina e na injúria pulmonar obtida por administração de doxorrubicina em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v.31, n.4, p. 253-256, 2004.

DINIZ, D. G. A.; LIMA, E. M.; ANTONLOSI, N. R. Isotretinoína: perfis farmacológico, farmacocinético e analítico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.38, n4, 2002.

EEKEN, J. C. J.; KLIN, I.; VEEN, B.L. V.; PASTINK, A.; FERRO, W. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor suppressor gene *wts*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 40, n. 4, p.277-282, 2002.

FIGUEIREDO, A.; MASSA, A.; PICOTO, A.; SOARES, A. P.; BASTO, A. S.; LOPES, C.; RESENDE, C.; REBELO, C.; BRANDÃO, F. M.; PINTO, G. M.; OLIVEIRA, H. S.; SELORES, M.; GONÇALO, M.; BELLO, R. T. Avaliação e tratamento do doente com acne - Parte I: Epidemiologia, etiopatogenia, clínica, classificação, impacto psicossocial,

mitos e realidades, diagnóstico diferencial e estudos complementares. *Revista Portuguesa de Clínica geral*, v. 27, p. 59-65, 2011.

GIMENO, A.; ZARAGOZÁ, E.; VIVÓ-SESÉ, I.; VINA, J.R.; MIRALLES, V.J. Retinol, at concentrations greater than the physiological limit, induces oxidative stress and apoptosis in human dermal fibroblasts. *Experimental dermatology*, v.13, n.1, p.45-54, 2004.

GOMES, A. P. L. *Protocolo - utilização de Drosophila em genética*. Departamento de Biologia Vegetal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2001. Disponível em: <<http://www.ordembilogos.pt/Publicacoes/Biologias/Droshort%20--%2001Jan01.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2014.

GOUVÊA, C. M. C.; SILVA JÚNIOR, R. A. Efeito do ácido retinoico sobre a cicatrização da epiderme de rato. *Revista da Universidade de Alfenas*, v. 5, p. 51-56, 1999.

GÜZEY, M.; DEMIRPENÇE, E.; CRISS, W.; DELUCA, H. F. Effects of retinoic acid (all-trans and 9-cis) on tumor progression in small-cell lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*, v.242, p. 369-375, 1998.

GRIFFITHS, A. J.; GELBAT, W. M.; LEWONTIN, R. C.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; WESSLER, S. D. *Introdução à genética*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GUDAS, L. J., SPORN, M. B.; ROBERTS, A. B. Cellular Biology and Biochemistry of Retinoids. The retinoids: Biology, *Chemistry and Medicine*. New York, 1994.

LAM, P.K.; TO, E. W. H.; CHAN, E.S.Y.; LIEW C.T.; LUNG, I. W. H.; KING, W. K. In vitro inhibition of head and neck cancer-cell growth by human recombinant interferon α and 13-cis retinoic acid. *Br J Biomed Sci*, v.58, p. 226-229, 2001.

LIPPMANN, S. M.; MEYSKENS, F. L. Treatment of advanced squamous cell carcinoma of the skin with isotretinoin. *Ann Intern Med*, v.107, p.107-499, 1987.

MANFRINATO, G.L. *Acupuntura estética no tratamento da acne (estudo de caso)*. 2009. 58f. Monografia (Especialização em Acupuntura) – Instituto Brasileiro de Terapias e Ensino, Maringá, 2009.

MIKLOS, G. L. G.; RUBIN, G. M. The role of genome project in Determining Gene Function: Insights from model Organisms. *Cell.*, v.86, n.4, p. 521-529, 1996.

OLIVEIRA, H. T. R. Efeito da isotretinoína do reparo de defeitos ósseos em calota craniana - Estudo em ratos. 2009. 109 f. Tese (Doutorado em Odontologia). *Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul*, Porto Alegre, 2009.

- ROBERTSON, D. B.; MAIBACH, H. I. Farmacologia Dermatológica. In: _____. KATZUNG, B, G. *Farmacologia Básica & Clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- SAMPAIO, S. A. P.; BAGATIN, E. Experiência de 65 anos no tratamento da acne e de 26 anos da isotretinoína. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.83, n.4, p. 361-367, 2008.
- SEMENIUK, C. E.; WOLCZYNSKI, S.; DZIECIOL, J.; DABROWSKA, M.; ANCHIM, T.; TOMASZEWSKA, I. 13-cis retinoic acid and all-trans retinoic acid in the regulation of the proliferation and survival of human breast cancer cell line MCF-7. *Cell Mol Biol Lett*, v. 6, p. 925-939, 2001.
- SHIN, D.M.; GLISSON, B.S.; KHURI, F.R.; CLIFFORD, J.L.; CLAYMAN, G.; BENNER, S.E. Phase II and biologic study of interferon alfa, retinoic acid and cisplatin in advanced squamous skin cancer. *J Clin Oncol*, v.20, p. 364-370, 2002.
- SILVA, C. E. V.; CAMACHO, A. A. Alterações ecocardiográficas em cães sob tratamento prolongado com doxorubicina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p.300-306, jun. 2005.
- SILVA, W. L. da; CARDOSO, M. A.; CANTISANO, M. H. Os antioxidantes no tratamento das leucoplasias bucais: revisão da literatura. *FONF Ciências*, v.4, n.1, p.7-12, 2004. Disponível em: <<http://www.uel.br/pessoal/buzato/pages/arquivos/seminarios/C2.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2015.
- SILVA JÚNIOR, E. D.; SETTE, I. M. F.; BELÉM, L. F.; JANEIRO, D. I.; PEREIRA, G. J. S.; BARBOSA, J. A. A.; MENEZES, M. D. S. F. Isotretinoína no tratamento da acne: riscos x benefícios. *Revista Brasileira Farmacêutica*, v.90, n3, p. 186-189, 2009.
- SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. *Fundamentos de genética*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- STONE, J.R.; YANG, S. Hydrogen peroxide: a signaling messenger. *Antioxidants and Redox Signaling*, v.8, p.244-262, 2006.
- ZANOTTO FILHO, A. *Efeitos diferenciais do retinol e do ácido retinoico na proliferação, morte e diferenciação celular: o papel da mitocôndria e da xantina oxidase nos efeitos pró-oxidantes da vitamina A*. 2009. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas e Bioquímica). Universidade Federal do Rio Grande de Sul, Porto Alegre, 2009.