



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGENICO DO ORLISTAT EM CELULAS MERISTEMATICAS DE RAIZ DE *Allium cepa*

Gabriela Rodrigues de SOUSA^{1,4}, Raylane Pereira GOMES^{2,5}, Angelma
GENARO^{2,4}, Daniela Medeiros Lobo de ANDRADE^{2,4}, Mônica de Oliveira
SANTOS^{2,4}, Aroldo Vieira de MORAES FILHO^{3,4*}

¹ Bolsista do Programa Bolsa de Iniciação Científica. Acadêmica do curso de Biomedicina.

² Pesquisadora Colaboradora.

³ Professor Orientador.

⁴ Faculdade Alfredo Nasser.

⁵ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro da Universidade Federal de Goiás.

* E-mail: aroldodemoraes@gmail.com

Resumo:

Tem sido fabricado constantemente, mais medicamentos contra obesidade, sendo que grande parte destes medicamentos podem ser comprados sem receita, como é o caso do Orlistat®. No entanto, alguns medicamentos podem causar efeitos genotóxicos no organismo, efeitos estes que estão intimamente relacionados com a carcinogênese e que são capazes portanto de causar modificações no DNA podendo trazer grandes prejuízos celulares. Com o intuito de oferecer informação a respeito da segurança para a saúde humana, contribuindo assim, com a saúde pública e auxiliando na garantia da qualidade de vida dos pacientes que fazem uso desse medicamento, espera-se ampliar o conhecimento a respeito da atividade genotóxica do Orlistat® para que se trace um panorama mais amplo no que se refere aos possíveis efeitos secundários produzidos por esse medicamento. Estão sendo realizados testes-piloto para definir as concentrações que serão estudadas nesse trabalho.

Palavras-chave: Obesidade. Genotoxicidade. Emagrecimento.

1 Introdução:

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo desregulado de gordura no organismo, que está associada a riscos para saúde, devido a sua relação com várias complicações metabólicas. Trata – se simultaneamente de uma doença e de um dos fatores de risco mais importantes para outras doenças crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares e *Diabetes mellitus* (Smith e Thier, 1990; Halpern, 1992; Olefsky, 1994; Bessesen, 1997; Chacra, 1997; Pi-Sunyer, 1997; Mancini, 1998; Suplicy, 1998; Halpern e Mancini, 1999).

A prevalência da obesidade vem aumentando entre adultos, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) pelo menos 1 bilhão de pessoas apresenta excesso de peso, das quais 300 milhões são obesos (Popkin, 2007).

Para o tratamento dessa doença recomenda-se a inserção diária de terapias farmacológicas e/ou não farmacológicas como exercícios físicos, mudança de hábitos alimentares, procedimentos cirúrgicos e medicamentos, respectivamente.

Na tentativa de auxiliar no tratamento da obesidade, atualmente existem fármacos com propriedades emagrecedoras diretas e/ou indiretas como os que inibem apetite (catecolaminérgicos), que aumentam a saciedade (serotoninérgicos), os que diminuem a absorção de gorduras e os que aumentam a queima de gordura (Guyton e Hall, 1997; Pi-Sunyer, 1997; Halpern e Mancini, 1999).

Dentre esses fármacos, o Orlistat® é de uso recente no tratamento da obesidade, que apresenta mecanismo de ação diferente dos demais por inibir as lípases do trato gastrointestinal, as quais são responsáveis pela clivagem e posterior absorção dos ácidos graxos (Drent e Veen, 1993; Drente et al., 1995;



Zhi et al., 1995; Zhi et al., 1996; James et al., 1997). Conhecido também como tetraidrolipostatina, é um inibidor específico das lípases gástricas e pancreáticas, as quais são importantes por auxiliarem a digestão das gorduras na dieta (Drent e Veen, 1993 ; Drent et al., 1995; Zhi et al., 1995 ;James et al., 1997; Mcneely e Benfield , 1998 ; Sjostrome et al., 1998). Esse medicamento é sintetizado quimicamente a partir de um derivado hidrogenado da lipostatina produzido pelo *Streptomyces toxytricini* (Drent e Veen , 1993; Procus , Mealy e Castaner , 1994; Zhi *et al.*, 1994 ; Amatruda e Welle , 1995 , Mcneely e Benfield ,1998) com a seguinte estrutura.

A avaliação da relação risco/benefício carcinogênico deve ser realizada sempre antes de prescrever um medicamento (Brambilla et al., 2011; Brambilla et al., 2012). Portanto, este trabalho visa contribuir para que se faça uma projeção do risco-benefício da utilização desse medicamento, demonstrando os possíveis efeitos genotóxicos desse tratamento. Para tanto, objetiva-se nesse trabalho: avaliar o potencial mutagênico do Orlistat® em células meristemáticas de *Allium cepa*; quantificar os efeitos mutagênicos do Orlistat® no sistema-teste utilizado; contribuir para elucidação de informações sobre prováveis efeitos adversos causados com o uso irracional do Orlistat®.

2 Metodologia:

Após a definição das concentrações-teste, serão utilizadas neste estudo como material celular, raízes de cebola. Serão realizados grupos controle negativo, controle positivo e teste (grupos expostos ao medicamento Orlistat®). No controle negativo será realizado o seguinte procedimento: inicialmente as cebolas serão colocadas em béqueres de 80 mL com água destilada para estimular o desenvolvimento de raízes fasciculadas. Em seguida as raízes serão colocadas em solução fixadora por um período de 24h. Em um eppendorf será colocado ácido clorídrico (HCl), e em outro eppendorf será colocado Orceína acética. A raiz será retirada da solução fixadora e colocada inicialmente no HCl por um tempo de 10 minutos para ocorrer a ruptura da região de membrana para o corante chegar no material genético, em seguida a



mesma será colocada no corante também por um tempo de 10 minutos. Após os 10 minutos a raiz será retirada do eppendorf com corante e colocada em uma placa de Petri, a região de coifa será destacada com ajuda de um bisturi, a coifa será transferida para uma lâmina, em seguida, será pingada uma gota de ácido acético para clarear o material que será coberto por uma lamínula. No grupo controle positivo Paracetamol®, para caracterizar o efeito genotóxico e no grupo teste, serão administradas diferentes concentrações do medicamento. Para o preparo das lâminas será realizado o método de esmagamento suave e as mesmas serão analisadas ao microscópio óptico em objetiva de 40X. Serão analisadas 1000 células em cada lâmina, observando se estarão em divisão ou em interfase. Das células em divisão serão analisadas 100 metáfase e 100 anáfase, dentre elas quais são anormais e quais são normais.

Para análise estatística, será utilizado o teste ANOVA, com nível de significância $\alpha = 0,05$, utilizando o pacote estatístico *SigmaStat*, versão 3.5.

3 Resultados parciais e Discussão:

A seleção do modelo-teste para realização dos testes a fim de avaliar a genotoxicidade da droga em questão foi realizada no período de junho de 2016. Dos modelos já descritos na literatura, foi selecionado como modelos-teste, a espécie de *Allium cepa*, que vem se destacando como um eficiente modelo genético devido a sua elevada sensibilidade e excelente correlação com outros sistemas-teste, facilidade de execução e rapidez na reprodutibilidade dos testes (Arraes e Longhin, 2012).

Para realização dos testes, foi determinado a população amostral, as concentrações do fármaco a serem avaliadas durante os testes, e a concentração do controle positivo (Paracetamol) para critério de comparação.

Para realização dos testes, foi determinado a população amostral de $n=5$. As doses-testes do Orlistat padronizadas para realização dos experimentos foram de 60mg, 360mg e 500mg. Estas doses forma



selecionadas com base nas doses consideradas subdose (onde a dose descrita é inferior à dose na qual a droga alcança efeito terapêuticos), dose terapêutica (de 60 à 120mg, 3 vezes ao dia), até superdose (onde a dose descrita é superior à dose na qual a droga alcança efeito terapêuticos, podendo atingir efeito toxicológico) (Fortes et al., 2006). A concentração de Paracetamol padronizada para sua utilização foi de 800 mg/L.

REFERÊNCIAS :

AMATRUDA, J. M.; WELLE , S. Obesity .in : FELIG , .; BAXTER , J.D.; FROHMAN, L. **Endocrinology and metabolism** .3.ed . New York : Mc Graw-Hill , 1995.

ARRAES, A. I. O. M. e LONGHIN, S. R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismos teste. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 1958-1972, 2012.

BRAMBILLA, G.; MATTIOLI, F.; ROBBIANO, L.; MARTELLI, A. Studies on genotoxicity and carcinogenicity of antibacterial, antiviral, antimalarial and antifungal drugs. **Mutagenesis**, p. 1–27 (2011).

BRAMBILLA, G.; MATTIOLI, F.; ROBBIANO, L.; MARTELLI, A. Update of carcinogenicity studies in animals and humans of 535 marketed pharmaceuticals. **Mutation Research**, v. 750, p. 1-51 (2012).

DRENT, M. L. et al . Orlistat (RO 18-0647), a lipase inhibitor , in the treatment of human obesity : a multiple dose study . **International Journal of Obesity**. 1995; 19: 221-226.

DRENT, M. L. VEEN , E. A. Lipase inhibition: a novel concept in the treatment of obesity. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**. 1993; 17: 241-244.

FORTES, R. C.; GUIMARÃES, N. G.; HAACK, A.; TORRES, A. A. L.; CARVALHO, K. M. B. Orlistat e sibutramina: bons coadjuvantes para perda e manutenção de peso? **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v. 21, n. 3, p. 244-251, 2006.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 9. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan , 1997

HALPERN, A.; MANCINI , M. C. Obesidade. **Jovem médico**, 1999; 1: 58-65.



JAMES, W.P.T. et al . A one -year trial to asses the value of orlistat in the management of obesity. **International Journal of Obesity**. 1997; 21: 24-30

PI-SUNYER , F. X. Obesity .in : Bennett, J.C.; PLUM, F . **Cecil tratado de medicina interna**. 20 . ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1997.

POPKIN BM. Global context of obesity. **Handbook of Obesity Prevention**. 2007;227-38.

ZHI, J. et al . Review of limited systemic absorption of orlistat , a lipase inhibitor in a healthy human volunteers .**J. Clin . Pharmacol** . 1995; 35: 1103-1108.

ZHI, J. et al. Retrospective population based analysis of the dose response (fecal fat excretion) relationship of orlistat in normal and obese volunteers. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. 1994; 56: 82-85.