

Avaliação da toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*

Evaluation of toxicity, cytotoxicity, mutagenicity and genotoxicity of dipyrone sodium and paracetamol in meristematic cells of *Allium cepa* roots

RESUMO

No Brasil, cerca de oitenta milhões de pessoas praticam a automedicação. Dentre os fármacos mais utilizados estão a dipirona sódica, cujo uso está associado a discrasias sanguíneas; e o paracetamol, que apresenta potencial hepatotóxico. Devido ao risco do uso indiscriminado, é necessária a aplicação de testes laboratoriais que possam acessar os possíveis danos relacionados a estes medicamentos. Neste sentido, o presente estudo objetivou avaliar a toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol através da aplicação dos testes *Allium cepa*, Ensaio Cometa e Ensaio de Letalidade com *Artemia salina*. A concentração letal 50% obtida pela dipirona foi de 962,98 e 186,65 µg/mL; e para o paracetamol 298,34 e de 172,42 µg/mL após 24 e 48 horas de exposição, respectivamente. Foi evidenciada a diminuição do Índice Mitótico nas concentrações de 250 e 500 µg/mL de dipirona, assim como no paracetamol em todas as concentrações, em relação ao controle. Associado a isso, foram observados aumento de Aberrações Cromossômicas na concentração de 125 µg/mL de dipirona e nas concentrações de 125 e 250 µg/mL do paracetamol. Em relação à frequência de danos, houve um aumento nas concentrações de 250 e 500 µg/mL para a dipirona, e 500 µg/mL para o paracetamol. Para os índices de danos, ocorreu aumento em todas as concentrações tanto para a dipirona como paracetamol. Diante do exposto, os resultados sugerem que a dipirona e o paracetamol apresentaram indícios de toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade.

Palavras-chave: Dipirona; *Artemia salina*; Toxicidade; *Allium cepa*; Ensaio Cometa.

ABSTRACT

In Brazil, about eight million of people practice self-medication. Among the pharmacists more use then dipyrone, whose use is associate blood dyscrasias, and paracetamol, that show hepatotoxic potential. Because of the risk of indiscriminate use, it's necessary the application of tests laboratories that can access the possible damages associated at these medicine. In this sense, the present study objective evaluate the toxicity, cytotoxicity, mutagenecity and genotoxixity of dipyrone and paracetamol through of the application of *Allium cepa* test comet assay and lethality test with *Artemia salina*. The lethal concentration 50% by dipyrone was of 962.98 and 186.65 µg/mL, and to the paracetamol 298.34 and of the 172.42 µg/mL then 24 and 48 hours of exposition, respectively. It was evidenced the decrease of Mitotic Index in concentrations of 250 and 500 µg/mL of dipyrone, even as paracetamol in all of the concentrations, in relation of control. Associate with this, were observed increase of the Chromosomes Aberrations in concentration of 125 µg/mL of dipyrone and the concentration of 125 and 250 µg/mL to dipyrone, and 500 µg/mL to paracetamol. And for index of damages, occurred increase in all of the concentrations both to the dipyrone as paracetamol. On the above, the results suggest that dipyrone and paracetamol exhibit sings of toxicity, cytotoxicity, mutagenecity and genotoxixity.

Keywords: Dipyrone; *Artemia salina*; Toxicity; *Allium cepa*; Comet Assay.

INTRODUÇÃO

No início do século XX, ocorreu um intenso volume de descobertas no campo da química que resultou no desenvolvimento de vacinas e medicamentos. Na década de 1940, foram desenvolvidos os quimioterápicos e antibióticos, com pesquisas impulsionadas pela Segunda Guerra Mundial. Na década de 1950, houve grande avanço em biotecnologia, com desenvolvimento de novos equipamentos e o início de desenvolvimento de moléculas químicas por planejamento e não ao acaso. Os avanços nas pesquisas de novos fármacos dessa época em diante são cada vez mais intensos e, em conjunto com sua promoção comercial, ocasionaram aumento progressivo do uso de medicamentos até os dias de hoje (CALIXTO & JUNIOR, 2008; GUILHERMANO et al., 2010).

No Brasil, cerca de 80 milhões de pessoas praticam a automedicação, há uma má qualidade de oferta de medicamentos, a obrigatoriedade da receita médica não é cumprida e, associado a isso, há uma carência de informações e instrução da população em geral, o que justifica a preocupação em implementar estratégias do uso racional de medicamentos (SILVA et al., 2011). Dentre os fármacos mais utilizados, a dipirona sódica e o paracetamol alcançam lugar de destaque. A dipirona é utilizada principalmente como analgésico e antitérmico, cuja utilização foi proibida em diversos países por sua associação com diversas discrasias sanguíneas. Entretanto, devido ao seu potente efeito analgésico, à disponível formulação parenteral e ao baixo custo, ela é extensivamente utilizada na Europa e América do Sul (SILVA et al., 2011).

De acordo com Marujo (2011), o paracetamol, ou acetaminofeno, é um dos analgésicos mais utilizados em nível mundial, de venda livre, barato e com um perfil de segurança favorável, apesar do potencial hepatotóxico. Trata-se um analgésico-antipirético derivado do p-aminofenol, que possui ação antipirética alta, analgésica média e anti-inflamatória baixa, sendo muito utilizado na pediatria para substituir o uso de salicilatos para evitar a síndrome de Reye, que produz a destruição do fígado (ROSSE et al., 2011; SEBEN et al., 2010).

Devido ao risco do uso indiscriminado desses medicamentos, é necessária a aplicação de alguns testes laboratoriais que podem ser usados para a identificação de danos, dentre eles, o Teste de *Allium cepa*, o Ensaio Cometa e o Ensaio de Letalidade com a *Artemia salina*. O Teste *A. cepa* é utilizado para a detecção de genotoxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade,

além de fornecer informações importantes para avaliar os mecanismos de ação de agentes clastogênicos e/ou aneugênicos (LEME; MARIN MORALES, 2009). O Ensaio Cometa, conforme Brianezi (2009) é muito útil e largamente empregado para a avaliação de danos e reparos de DNA em células individuais. E o Ensaio de Letalidade com *A. salina* é uma das ferramentas mais úteis para a avaliação preliminar de toxicidade geral (SUBHAN et al., 2008).

Considerando a importância da dipirona sódica e do paracetamol no mercado farmacêutico brasileiro, e seu consumo indiscriminado pela população, é necessário avaliar o desenvolvimento de danos ao DNA causados por essas substâncias. Apesar dos diversos estudos disponíveis, ainda há a necessidade de pesquisas de complementação sobre os efeitos gerados por estes fármacos. Devido a isto, este trabalho visa avaliar a toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* através da aplicação dos testes *A. cepa*, Ensaio Cometa e Ensaio de Letalidade com *A. salina*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho resultou de um estudo do tipo experimental, com abordagem quantitativa e descritiva, o qual, para a sua realização, foram utilizados dipirona sódica (500 mg/mL) e paracetamol (200 mg/mL) disponíveis comercialmente e produzidos no Brasil - ambos solução oral. Para a execução das metodologias propostas, foram adquiridos 40 espécimes de *A. cepa* por meio de comercialização em um mercado local. Os espécimes foram distribuídos em cinco exemplares para cada concentração de dipirona e paracetamol (125, 250 e 500 µL/mL), além do controle negativo com água destilada e do controle positivo com 0,0006 mg/mL de sulfato de cobre (CuSO₄).

A dipirona e o paracetamol foram analisados através de três bioensaios: o Ensaio de Letalidade com *A. salina*, que avaliou a toxicidade e identificou a concentração Letal 50% (CL₅₀); o Teste *A. cepa*, que avaliou a toxicidade, a citotoxicidade e a mutagenicidade; e o Ensaio Cometa, para a determinação da genotoxicidade. Todos os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (E.P.M.). Os dados obtidos foram avaliados por meio da Análise de Variância (ANOVA) seguida do Teste *Dunnnett's* como post hoc teste. Os dados foram analisados utilizando o software *Graph Pad Prism 6.0* (San Diego, CA, EUA). Os grupos experimentais foram

comparados com o grupo controle e as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

O Teste *A. cepa* foi realizado conforme descrito por Radić et al. (2010). O Ensaio de Letalidade com *A. salina* foi feito de acordo com a metodologia proposta por Meyer et al. (1982), modificado por Nunes et al. (2009). Para a execução do estudo foi necessária a elaboração do Protocolo de Ensaio Cometa em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, que foi desenvolvido através de adaptações de Radić et al. (2010), Dhawan e Anderson (2009) e Da Silva et al. (2000).

Inicialmente, procedeu-se com o Teste *A. cepa* para a obtenção das raízes utilizadas. As raízes obtidas, após a fixação em Carnoy e conservação em etanol, foram lavadas três vezes com água destilada para o isolamento do núcleo de maneira mecânica em uma placa de petri, com o auxílio de um bisturi, contendo 320 mL de 0,4 M tampão Tris-HCl, pH 7,5. Previamente, foram preparadas lâminas de pré-cobertura com 1% de agarose de ponto de fusão normal (NMPA). Os núcleos isolados foram misturados a uma segunda camada de agarose 1% de baixo ponto de fusão em uma proporção de 1:1, onde 100 mL desta mistura foi colocado em cada lâmina e cobertos por uma lamínula, removida após cinco minutos, sobre uma superfície gelada e seguido de eletroforese, fixação e coloração, segundo o Protocolo de Ensaio Cometa descrito por Da Silva et al. (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Com a realização do Ensaio de Letalidade em *A. salina*, para a dipirona, a CL_{50} obtida foi de 962,98 e 186,65 $\mu\text{g/mL}$, após 24 e 48 horas de exposição, respectivamente. Similarmente, o paracetamol foi avaliado quanto a Cl_{50} , apresentando valores de 298,34 e de 172,42 $\mu\text{g/mL}$, após 24 e 48 horas de exposição, respectivamente (Tabela 1, a seguir).

Tabela 1 - Concentração Letal 50% (Cl_{50}) da dipirona sódica e do paracetamol após 24 e 48 horas de exposição pelo Ensaio de Letalidade com *A. salina*.

Fármacos	24 horas	48 horas
Dipirona sódica	962, 98 $\mu\text{g/mL}$	86, 65 $\mu\text{g/mL}$
Paracetamol	298, 34 $\mu\text{g/mL}$	172, 42 $\mu\text{g/mL}$

A partir do Teste *A. cepa* com dipirona, foi possível ser observada pela inibição do crescimento das raízes (em centímetros) em relação ao controle negativo (CN), nas

concentrações de 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando, desta forma, a toxicidade deste composto nestas concentrações. A citotoxicidade foi ressaltada pela diminuição do Índice Mitótico (IM) nas concentrações de 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$, em relação ao CN. A mutagenicidade foi observada pelo aumento de Aberrações Cromossômicas (AC) na concentração de 125 $\mu\text{g/mL}$ em relação ao CN. Entretanto, não foi evidenciada mutagenicidade pela porcentagem de células micronucleadas (MN) presentes (Tabela 2, Tabela 3).

Tabela 2 – Avaliação da citotoxicidade e toxicidade da dipirona pelo sistema teste *Allium cepa*.

Tratamento	Índice mitótico (%)	Tamanho raízes (cm)
CN	59,20 \pm 2,85	1,20 \pm 0,04
CP	5,920 \pm 1,31 ^a	0,50 \pm 0,02 ^a
D 125	50,38 \pm 3,73	1,20 \pm 0,05
D 250	34,18 \pm 2,29 ^a	0,68 \pm 0,05 ^a
D 500	37,54 \pm 1,70 ^a	0,51 \pm 0,04 ^a

Notas: Os valores representam a média \pm E.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinados por Análise de Variância (ANOVA), seguido de Dunnet's como post hoc test. CN: Controle Negativo. CP: Controle Positivo. D 125: Dipirona 125 $\mu\text{g/mL}$. D 250: Dipirona 250 $\mu\text{g/mL}$. D 500: Dipirona 500 $\mu\text{g/mL}$. Significância de ^a $P < 0,05$ em relação ao CN.

Tabela 3 – Avaliação mutagênica da dipirona pelo sistema teste *A. cepa*.

Tratamento	Aberrações cromossômicas (%)	Micronúcleos (%)
CN	0,12 \pm 0,03	0,12 \pm 0,03
CP	0,96 \pm 0,11 ^a	0,58 \pm 0,03 ^a
D 125	0,60 \pm 0,12 ^a	0,18 \pm 0,03
D 250	0,28 \pm 0,11	0,10 \pm 0,03
D 500	0,26 \pm 0,09	0,08 \pm 0,02

Notas: Os valores representam a média \pm E.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA), seguido de Dunnet's como post hoc test. CN: Controle Negativo. CP: Controle Positivo. D 125: Dipirona 125 $\mu\text{g/mL}$. D 250: Dipirona 250 $\mu\text{g/mL}$. D 500: Dipirona 500 $\mu\text{g/mL}$. Significância de ^a $P < 0,05$ em relação ao CN.

Com a aplicação do Teste *A. cepa* com paracetamol, foi possível ser observada pela inibição do crescimento das raízes (em centímetros) em relação ao CN, nas concentrações de 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando, desta forma, a toxicidade deste composto nestas concentrações. A citotoxicidade foi ressaltada pela diminuição do IM, em todas as concentrações em relação ao CN. A mutagenicidade foi observada pelo aumento de AC nas concentrações de 125 e 250 $\mu\text{g/mL}$.

Entretanto, não foi evidenciada mutagenicidade do paracetamol pela porcentagem de MN presentes (Tabela 4, Tabela 5).

Tabela 4 – Avaliação da toxicidade e citotoxicidade do paracetamol pelo sistema teste *A. cepa*.

Tratamento	Índice mitótico (%)	Tamanho raízes (cm)
CN	59,20 ± 2,85	1,20 ± 0,04
CP	5,92 ± 1,31 ^a	0,50 ± 0,02 ^a
P 125	41,17 ± 4,05 ^a	1,04 ± 0,05
P 250	27,60 ± 2,17 ^a	0,88 ± 0,05 ^a
P 500	21,42 ± 0,77 ^a	0,44 ± 0,03 ^a

Notas: Os valores representam a média ± E.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA), seguido de Dunnett's como post hoc test. CN: Controle Negativo. CP: Controle Positivo. P 125: Paracetamol 125 µg/mL; P 250: Paracetamol 250 µg/mL; P 500: Paracetamol 500 µg/mL; Significância de ^aP<0,05 em relação ao CN.

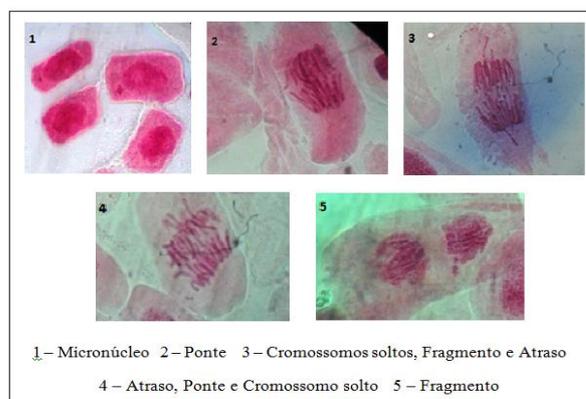
Tabela 5 – Avaliação mutagênica do paracetamol pelo sistema teste *A. cepa*.

Tratamento	Aberrações cromossômicas (%)	Micronúcleos (%)
CN	0,12 ± 0,03	0,12 ± 0,03
CP	0,96 ± 0,11 ^a	0,58 ± 0,03 ^a
P 125	1,70 ± 0,20 ^a	0,16 ± 0,05
P 250	0,68 ± 0,09 ^a	0,10 ± 0,05
P 500	0,56 ± 0,23	0,06 ± 0,02

Notas: Os valores representam a média ± E.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA), seguido de Dunnett's como post hoc test. CN: Controle Negativo. CP: Controle Positivo. P 125: Paracetamol 125 µg/mL; P 250: Paracetamol 250 µg/mL; P 500: Paracetamol 500 µg/mL; Significância de ^aP<0,05 em relação ao CN.

Durante a análise das fotomicrografias das lâminas do Teste *A. cepa*, foi possível a visualização de aberrações cromossômicas (cromossomos soltos, fragmentos, pontes e cromossomos em atraso na anáfase) e células micronucleadas (Figura 1).

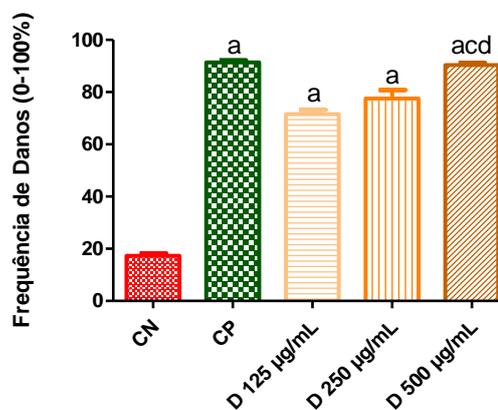
Figura 1: Fotomicrografia de aberrações cromossômicas e micronúcleos presentes nas células meristemáticas de raízes de *A. cepa* expostas à dipirona sódica e ao paracetamol



Fonte: Dados da pesquisa, 2013.

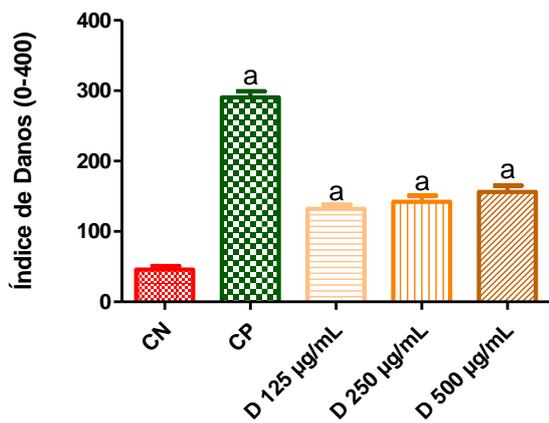
Com a execução do Ensaio Cometa, efeitos genotóxicos da dipirona foram evidenciados pelo aumento significativo das frequências de danos em todas as concentrações utilizadas em relação ao CN, e pelo aumento dos índices de danos em todas as concentrações em relação ao CN (Gráfico 1 e 2).

Gráfico 1 – Frequência de danos no DNA de células meristemáticas de *A. cepa* expostas à dipirona sódica.

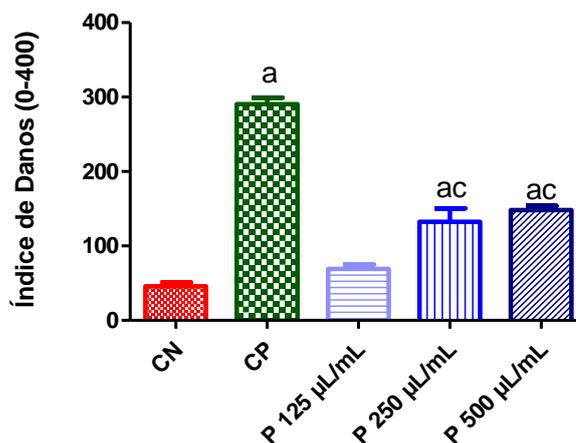


Notas: CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; D: Dipirona; ANOVA, e pós-teste de Dunnett's. Significância de ^aP<0,05 em relação ao CN, ^cP<0,05 em relação ao D 125 µg/mL e ^dP<0,05 em relação ao D 500 µg/mL.

Gráfico 2 – Índice de danos no DNA de células meristemáticas de *A. cepa* expostas à dipirona sódica.



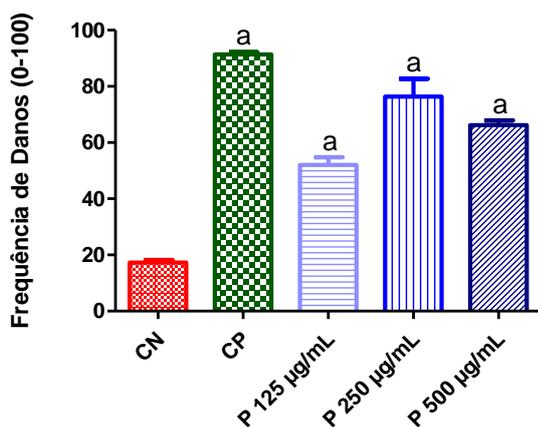
Notas: CN: Controle Negativo; H₂O₂: Controle Positivo; D: Dipirona; ANOVA, e pós-teste de Dunnett's. Significância de ^aP<0,05 em relação ao CN.



Notas: CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; ANOVA, e pós-teste de Dunnett's. Significância de ^aP<0,05 em relação ao CN e ^cP<0,05 em relação ao P 125 µg/mL.

Com a execução do Ensaio Cometa, efeitos genotóxicos do paracetamol foram evidenciados pelo aumento significativo das frequências de danos em todas as concentrações utilizadas, em relação ao CN, e pelo aumento dos índices de danos nas concentrações 250 µg/mL e 500 µg/mL, em relação ao CN (Gráfico 3 e 4).

Gráfico 3 - Frequência de danos no DNA de células meristemáticas de *A. cepa* expostos ao paracetamol.



Notas: CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; P: Paracetamol; ANOVA, e pós-teste de Dunnett's. Significância de ^aP<0,05 em relação ao CN.

Gráfico 4 - Índice de danos no DNA de células meristemáticas de *A. cepa* expostos ao paracetamol.

Segundo estudos epidemiológicos desenvolvidos por Souza (2011), no Brasil, o perfil de automedicação avaliado em 4.174 pessoas, de ambos os sexos, com idade entre 0 e 95 anos, foi de 17,3% dos medicamentos utilizados. Nessa prática, analgésicos como a dipirona (7,1%), o ácido acetilsalicílico (4,9%) e o paracetamol (1,4%) foram os mais relatados.

A dipirona (sal de sódio do 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilaminometano-sulfonato-5-pirazolona) é um pó branco cristalino solúvel presente em analgésicos, antipiréticos e drogas antiespasmódicas em muitas formas de dosagem farmacêutica, sendo restrita sua comercialização em alguns países, devido ao risco de reações adversas. Seu uso pode causar reações tais como distúrbios renais transitórios e inflamação do tecido renal, principalmente em pacientes com histórico de doença renal ou nos casos de sobredosagem (DADAMOS et al., 2012).

O paracetamol ou acetaminofeno (APAP, N-acetil-p-aminofenol) é um analgésico antipirético vulgarmente utilizado, sendo a causa mais comum de insuficiência hepática aguda induzida por drogas nos Estados Unidos (AGARWAL et al., 2011). De acordo com McGill et al. (2012), o mau uso de acetaminofeno é responsável por cerca de 56 mil atendimentos de emergência, 26 mil hospitalizações e cerca de 500 mortes por ano, nos Estados Unidos.

Conforme pode ser observado na Tabela 1, o valor da CL₅₀ tanto para a dipirona quanto para o paracetamol foi caracterizado como tóxico após 48 horas de exposição, pois, segundo estudos realizados por Santos Júnior et al. (2010), substâncias tóxicas são aquelas que apresentam valores de CL₅₀ abaixo de 1000 µg/mL.

Leite et al. (2009) descrevem que os

valores mais utilizados como referência para a CL_{50} são obtidos de estudos que relacionam a toxicidade sobre *A. salina* com atividades antifúngica, antimicrobiana, larvicida e de citotoxicidade para linhagens de célula humana de tumores sólidos. Associado a isso, em grande importância na avaliação de toxicidade de extratos de plantas, bem como principais benefícios, estão a rapidez, simplicidade e baixo custo de realização (FAIMALI et al., 2012).

A partir do Teste *A. cepa* com dipirona e paracetamol, foi possível ser observada pela inibição do crescimento das raízes (em centímetros) em relação ao CN, demonstrando, desta forma, a toxicidade destes compostos (Tabelas 2 e 4). De acordo com Pamplona et al. (2011), a dipirona é causadora de danos ao DNA, sendo considerada mutagênica para várias linhagens de *Salmonella sp.*, além de tóxica, citotóxica e genotóxica para organismos de diferentes sistemas como *Allium cepa*, *Ceriodaphnia affinis*, *Hydra attenuata* e *Carassius auratus gibelio*. Os autores relatam ainda que este fármaco é tóxico para organismos aquáticos, causando danos ao DNA que podem alcançar níveis ultraestruturais.

Neste estudo, a citotoxicidade da dipirona sódica (Tabela 2) e do paracetamol (Tabela 4) em *A. cepa* é ressaltada pela diminuição do IM. Segundo Pinho et al (2010), as células das raízes meristemáticas tratadas com paracetamol 400 mg/L apresentaram uma redução no IM, enquanto as que foram tratadas com água demonstraram aumento no IM. O tratamento controle, quando comparado ao tratamento com paracetamol, evidencia que houve inibição da divisão celular nessas células tratadas com paracetamol. Ao observarem a média de anormalidades do ciclo mitótico, os autores constataram que as células expostas ao paracetamol tiveram essa média diminuída quando comparadas às células tratadas com água. Além disso, as anormalidades interfásicas foram apresentadas com maior frequência nas células expostas ao paracetamol.

Sturbelle et al. (2010), em seus estudos, puderam concluir que as células tratadas com água e com paracetamol 800 mg/L apresentam uma diferença significativa, pois o paracetamol causou anomalias interfásicas e um diminuído número de células em divisão, quando comparado aos efeitos do tratamento controle (água), demonstrando o efeito mutagênico do paracetamol.

A mutagenicidade da dipirona sódica e do paracetamol (Tabela 3 e 5) em *A. cepa* foi observada pelo aumento de aberrações cromossômicas (AC) (Figura 1); porém, não foi

evidenciado mutagenicidade da dipirona sódica e do paracetamol em *A. cepa* pela porcentagem de células micronucleadas (MN) (Figura 1) presentes (Tabela 2 e 4).

Na realização do teste *A. cepa* com dipirona e paracetamol foram observados cromossomos soltos e/ou fragmentados, pontes e atrasos anafásicos (Figura 1 e Tabelas 3 e 5). De acordo com o observado nas Tabelas 3 e 5, as AC evidenciadas apresentaram significância em relação ao CN. Entretanto, quando comparadas entre si, estas não demonstraram significância.

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, GAPs, quebras de cromátídeos, anéis e figuras tetrarradiais.

Com relação à formação do micronúcleo, Flores e Yamaguchi (2008) e Paz et al. (2013) afirmam que esta ocorre durante a divisão celular e é resultante da expulsão de cromossomos fragmentados ou inteiros. O micronúcleo é uma estrutura que não apresenta núcleo e localizada próxima ao núcleo. As principais funções do micronúcleo são sinalizar a mutagenicidade e mostrar a ocorrência de danos genéticos. O micronúcleo é conhecido na hematologia como Corpúsculo de Howel-Jolly, e quando tem a sua frequência aumentada significa que as células foram expostas a agentes mutagênicos.

Em relação ao Ensaio Cometa, efeitos genotóxicos foram evidenciados pelo aumento significativo das Frequências de Danos para a dipirona e para o paracetamol, em relação ao CN, além do aumento significativo dos Índices de Danos para a dipirona e para o paracetamol, em relação ao CN (Gráfico 1, 2, 3 e 4).

As células analisadas durante a microscopia do Ensaio Cometa realizado foram classificadas de dano zero a quatro. Conforme Brianezi (2009) e Sampaio et al. (2012), as células migradas no Ensaio Cometa possuem forma aparente de um cometa, com cabeça, a região nuclear, e cauda, sendo classificadas de zero (células sem alteração morfológica) até quatro (DNA totalmente fragmentado); onde cometas contêm fragmentos ou fitas de DNA que migraram na direção do ânodo e que têm um papel relevante na formação de aberrações cromossômicas, além de modificações nas bases de DNA.

Em estudo realizado por Pamplona et al. (2011), utilizando o Ensaio Cometa no sangue de

peixes tratados com diferentes concentrações de dipirona (0,5; 5 e 50 µL/L), foi possível observar danos genotóxicos na concentração 0,5 µL/L. O estudo sugere que a dipirona é metabolizada em um composto denominado N-nitrosodimetilamina, que é conhecido pelo efeito genotóxico. Brambilla e Martelli (2009) realizaram estudos com 62 medicamentos, dentre eles, analgésicos, anti-inflamatórios e antipiréticos, avaliando seu potencial genotóxico e carcinogênico, apresentando dados positivos de genotoxicidade ou carcinogenicidade, para a dipirona e paracetamol.

Através da análise dos dados estatísticos foi possível relacionar que os testes utilizados para avaliar a toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol obtiveram uma similaridade. As aberrações cromossômicas observadas no teste *Allium cepa* estão relacionadas com os danos evidenciados pelo Ensaio Cometa. Diante do exposto, os resultados apresentaram significância pelos sistemas testes utilizados, *A. salina*, *A. cepa* e Ensaio Cometa, indicando, assim, que a dipirona e o paracetamol apresentaram indícios de toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade.

CONCLUSÕES:

Através da análise dos dados estatísticos foi possível relacionar que os testes utilizados para avaliar a toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol obtiveram uma similaridade. As aberrações cromossômicas observadas no teste *A. cepa* estão relacionadas com os danos evidenciados pelo Ensaio Cometa. Diante do exposto, os resultados apresentaram significância pelos sistemas testes utilizados, *A. salina*, *A. cepa* e Ensaio Cometa, indicando, assim, que a dipirona e o paracetamol apresentaram indícios de toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade.

AGRADECIMENTOS:

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí e ao Centro Universitário UNINOVAFAPI por nos disponibilizar a infraestrutura necessária para a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS:

AGARWAL, R.; MACMILLAN-CROW, L.A.;

RAFFERTY, T.M.; SABA, H.; ROBERTS, D.W.; FIFER, E.K.; JAMES, L.P.; HINSON, J.A. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice Occurs with Inhibition of Activity and Nitration of Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase. **J. Pharmacol. Exp. Ther**, v. 337, p.110-116, 2011.

BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A. Genotoxicity and carcinogenicity studies of analgesics, anti-inflammatory drugs and antipyretics. **Pharmacological Research**, v. 60, n. 1, 2009.

BRIANEZI G.S. Desenvolvimento e Validação de Técnica Quantitativa de Análise de Imagem para Avaliação do Teste do Cometa Corado pela Prata. **J Bras Patol Med Lab**, v. 45, n. 4, 2009.

CALIXTO J.B.; JUNIOR J.M.S. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. **Gaz. méd.**, v.10, 2008.

COSTA C.; TEIXEIRA J.P. Efeitos Genotóxicos dos Pesticidas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, 2012.

DADAMOS, T.R.L.; FREITAS, B.H.; GÊNOVA, D.H.M.; ESPÍRITO-SANTO, R.D.; GONZÁLEZ, E.R.P.; LANFREDI, S.; TEIXEIRA, M.F.S. Electrochemical characterization of the paste carbon modified electrode with K₂Sr₂Ni_{0.75}Nb_{4.25}O₁₅-I solid in catalytic oxidation of the dipyrone. **Sensors and Actuators B**, v. 169, 2012.

DA SILVA, J.; FREITAS, T.R.O.; MARINHO, J.R.; SPEIT, G.; ERDTMANN, B. An alkaline single cell gel electrophoresis (comet) assay for environmental biomonitoring with native rodents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 1, 2000.

DHAWAN, A.; ANDERSON, D. **The Comet Assay in Toxicology**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2009.

DUSMAN, E.; BERTI, A.P.; SOARES, L.C.; VICENTINI, V.E.P. Principais agentes mutagênicos e carcinogênicos de exposição humana. **Rev. Saúde e Biol.**, v.7, n.2, 2012.

FAIMALI, M.; GIUSSANI, V.; PIZZA, V.; GARAVENTA, F.; CORRÀ, C.; ASNAGHI, V.; PRIVITERA, D.; GALLUS, L.; CATTANEO-VIETTI, R.; MANGIALAJO, L.; CHIANTORE, M. Toxic effects of harmful benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata* on invertebrate and vertebrate marine organisms. **Mar Environ Res.**, v. 76, 2012.

- FLORES M.; YAMAGUCHI M.U. Teste de micronúcleo: uma triagem para avaliação genotóxica. **Rev. Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, 2008.
- GUILHERMANO, G.; SCHWARTSMANN, L.B.; SERRES, J.C.B. **Páginas da História da Medicina**. Rio Grande do Sul: EDIPUCRS, 2010.
- LEITE J.J.G.; BRITO, E.H.S.; CORDEIRO, R.A.; BRILHANTE, R.S.N.; SIDRIM, J.J.C.; BERTINI, L. M.; MORAIS, S.M.; ROCHA, M.F.G. Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, 2009.
- LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutat Res.**, v. 682, n. 1, 2009.
- MARUJO, V. Uso de paracetamol na enxaqueca. *Rev port clin geral*, v. 27, n. 1, 2011. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clsystrev/articles/CD008040/frame.html>
- MCGILL, M.R.; SHARPE, M.R.; WILLIAMS, C.D.; TAHA, M.; CURRY, S.C.; JAESCHKE, H. The mechanism underlying acetaminophen induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. **The J Clin Invest.**, v. 122, n. 4, 2012.
- MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica.**, v. 45, 1982.
- NUNES, L.C.C.; GALINDO, A.B.; DEUS, A.S.O.; RUFINO, D.A.; RANDAU, K.P.; XAVIER, H.S.; CITÓ, A.M.G.L.; NETO, P.J.R.; Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2B, 2009.
- PAMPLONA J.H. Subchronic effects of dipyrone on the fish species *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicol Environ Saf.**, v.74, 2011.
- PAZ, M.F.C.J.; ALENCAR, M.V.O.B.; SOARES, R.L.L.; COSTA, D.A.F.; NUNES, A.T.; CAVALCANTE, A.A.C.M. Avaliação tóxica, citotóxica, mutagênica e genotóxica do látex da *Himatanthus suluensis*: uma questão de saúde pública. **Rev. Interd.**, v. 6, n. 1, 2013.
- PINHO, D.S.; STURBELLE, R.T.; MARTINOROTH, M.G.; GARCIAS, G.L. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. **Rev. Bras. Farm.**, v. 20, n. 2, 2010.
- RADIĆ, S.; STIPANIČEV, D.; VUJČIĆ, V.; RAJČIĆ, M.M.; ŠIRAC, S.; PEVALEK-KOZLINA, B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environ.**, v.408, 2010.
- ROCCO P.R.M.; XISTO, D.G.; SILVA, J.D.; DINIZ, M.F.F.M.; ALMEIDA, R.N.; LUCIANO, M.N.; MEDEIROS, I.A.; CAVALCANTI, B.C.; FERREIRA, J.R.O.; DE MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, L.V.; PESSOA, C. Ó.; DALLA-COSTA, T.; CATTANI, V.B.; BARREIRA, E.J.; LIMA, L.M. LASSBio-596: da descoberta aos ensaios pré-clínicos. **Rev. Virtual de Química**, v. 2, n. 1, 2010.
- ROSSE, W.J.D. Perfil da automedicação em acadêmicos do curso de farmácia da Univiçosa, Viçosa, MG. **Rev. Bras. Farm.**, v. 92, n. 3, 2011.
- SAMPAIO, J.; TREMÉA, R.; MARCO, M.G.; VIEIRA, R.B.; TACCA, J.A.; STROHER, D.J.; PILAR, B.C.; GÜLLICH, A.A.C.; SCHWANZ, M.; MANFREDINI, V. Estudo da genotoxicidade in vitro e in vivo após exposição aguda e subcrônica de extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. obtidos por infusão. **Rev Bras Biocienc.**, v. 10, n. 4, 2012.
- SEBBEN, V.C.; LUGOCH, R.W.; SCHLINKER, C.S.; ARBO, M.D.; VIANNA, R.L. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica de paracetamol. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 46, n. 2, 2010.
- SILVA I.M.; CATRIB, A.M.F.; MATOS, V.C.; GONDIM, A.P.S. Automedicação na adolescência: um desafio para a educação em saúde. **Rev. Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, 2011.
- SILVA, J.R.; GOMES, C.D.; VELOSO, C.M.; SANTOS, J.A. Comparação da Estabilidade da Dipirona Sódica Solução Oral em frasco de vidro e polietileno. **Ensaio e Ciência: Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde**, v. 15, n.6, 2011.
- SOUZA, L.A.F.; SILVA, C.D.; FERRAZ, G.C.; SOUSA, F.A.E.F.; PEREIRA, L.V. Prevalência e caracterização da prática de automedicação para alívio da dor entre estudantes universitários de

enfermagem. **Rev. Latino-Am. Enferm.**, v. 19, n. 2, 2011.

SANTOS JÚNIOR, H.M.; OLIVEIRA, D.F.; CARVALHO, D.A.; PINTO, J.M.A.; CAMPOS, V.A.C.; MOURÃO, A.R.B.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, L.V. Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. **J Nat Med.**, v. 64, n. 2, 2012.

SUBHAN, N.; ALAM, M.A.; AHMED, F.; SHAHID, I.J.; NAHAR, L.; SARKER, S.D. Bioactivity of *Excoecaria agallocha*. **Rev Bras Farm.**, v. 18, n. 4, 2008.

STURBELLE, R.T.; PINHO, D.S.; RESTANI, R.G.; OLIVEIRA, G.R.; GARCIA, G.L.; MARTINO-ROTH, M.G. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. **Rev. Bras. Farm.**, v. 20, n. 3, 2010.