

Avaliação acerca do Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo biomédico para determinação da toxicidade do dimesilato de lisdexanfetamina

Evaluation of Zebrafish (*Danio rerio*) as a biomedical model for determining the toxicity of lisdexanfetamine dimesylate

Evaluación sobre el Zebrafish (*Danio Rerio*) como modelo biomédico para la toxicidad del dimesilato de lisdexanfetamina

Recebido: 25/03/2022 | Revisado: 07/04/2022 | Aceito: 08/04/2022 | Publicado: 14/04/2022

Vivianne Rodrigues Português

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9399-6422>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: vivianne-portugues@bol.com.br

Valquiria Weiller Hermes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5732-0510>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: ovalquiriah@gmail.com

Isabela Machado Paulino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1498-320X>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: isabelamachadopaulino@hotmail.com

Beatrice Lemes Mendonça

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8346-5097>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: beatrice.l.mendonca@gmail.com

Carlos Eduardo Cabral Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0458-6104>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: carlostedu_cm@hotmail.com

Carlos Emanuel do Prado Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0491-3475>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: emanuel.filho@hotmail.com

Natália Margioli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8143-4799>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: natalia.margioli@hotmail.com

Vanessa de Figueiredo Campos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3990-3330>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: vanessa.campos68@gmail.com

Vinicius Pereira do Carmo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5743-9650>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: grands_chase@hotmail.com

Françoise Carmignan

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7158-7089>

Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Brasil

E-mail: fran.carmignan@uniderp.edu.br

Carla Leticia Gediel Rivero-Wendt

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6361-6927>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: leticiajediel@gmail.com

Resumo

O zebrafish (ZF), de nome científico *Danio rerio*, é cada vez mais usado para realização de testes envolvendo a formação de circuitos neuronais, padrões de comportamento e neuropatogenia, que permitem a realização de estudos toxicológicos envolvendo o Sistema Nervoso Central. Dessa forma, fármacos que atuam em sistemas relacionados às monoaminas, como a dopamina e a serotonina - fundamentais na regulação das funções cerebrais em animais e humanos - podem ser melhor estudados a partir de métodos utilizando o ZF, o qual possui, componentes específicos para captar essas substâncias, permitindo sua avaliação. Nesse cenário, o Dimesilato de Lisdexanfetamina (DEX), um fármaco utilizado

para tratamento de Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), possui propriedades capazes de atuar nos mecanismos reguladores das monoaminas, a fim de minimizar os déficits provocados pelo transtorno. Entretanto, devido a esses atributos, o DEX vem sendo utilizado por jovens e adultos hígidos, podendo trazer prejuízos devido a possíveis danos neurotóxicos. Com isso, este estudo objetiva por meio de uma revisão integrativa confirmar a aplicabilidade do modelo biomédico do ZF em avaliação de neurotoxicidade do DEX.

Palavras-chave: DEX; Neurotoxicidade; TDAH; *Zebrafish*; Ensino de saúde.

Abstract

Zebrafish (ZF), scientific name *Danio rerio*, is increasingly used to perform tests involving the formation of neuronal circuits, behavior patterns and neuropatogeny, which allow toxicological studies involving the Central Nervous System. Thus, drugs that act in monoamine-related systems, such as dopamine and serotonin - fundamental in the regulation of brain functions in animals and humans - can be better studied from methods using ZF, which has specific components to capture these substances, allowing their evaluation. In this scenario, Lisdexamphetamine Dimesilate (DEX), a drug used to treat Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), has properties capable of acting on the regulatory mechanisms of monoamines in order to minimize deficits caused by the disorder. Entretanto, devido a esses atributos, o DEX vem sendo utilizado por jovens e adultos hígidos, podendo trazer prejuízos devido a possíveis danos neurotóxicos. Com isso, este estudo objetiva por meio de uma revisão integrativa confirmar a aplicabilidade do modelo biomédico do ZF em avaliação de neurotoxicidade do DEX.

Keywords: DEX, Neurotoxicity; ADHD; *Zebrafish*; Health teaching.

Resumen

El *zebrafish* (ZF) con el nombre científico *Danio rerio*, se utiliza cada vez más para realizar pruebas tanto en su fase embrionaria como larvaria en el Sistema Nervioso Central, con énfasis en aquellos que involucran la formación de circuitos neuronales, patrones de comportamiento y neuropatogenia, permitiendo la realización de estudios toxicológicos. De esa forma, los fármacos que actúan sobre sistemas relacionados con las monoaminas dopamina, serotonina, esencial en la regulación de las funciones cerebrales en animales en humanos, pueden estudiarse mejor utilizando métodos que utilizan ZF, que tiene componentes específicos para capturar estas sustancias. En este escenario, el dimesilato de lisdexanfetamina (DEX), un medicamento utilizado recientemente para tratar el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), también ha sido utilizado por jóvenes y adultos sanos, lo que provoca riesgos como la neurotoxicidad. En esta perspectiva, este estudio tiene como objetivo verificar la aplicabilidad del modelo biomédico ZF para la evaluación de la neurotoxicidad DEX. Para eso, realizó una revisión narrativa y el resultado teniendo fue que es posible utilizar el ZF para verificar eficazmente la neurotoxicidad por DEX, pero hay escasez de artículos científicos sobre este tema en la literatura investigada.

Palabras clave: DEX; Neurotoxicidad; TDAH; *Zebrafish*; Educación en la salud.

1. Introdução

A priori, dentro do grupo das substâncias chamadas psicotrópicas, as drogas psicoestimulantes são caracterizadas por estimular o sistema nervoso central, o que provoca um estado de euforia, aumento da emotividade, energia e estado de alerta constante. Destas drogas, podem-se destacar as metilxantinas, nicotina, vareniclina, cocaína, metilfenidato e anfetaminas (Goodman, 2010). Sob esta ótica, o DEX consiste em uma pró-droga inativada que possui em sua estrutura uma molécula de d-anfetamina ligada a uma molécula de l-lisina, que após a clivagem hepática, passa a ser metabolicamente ativo. Supõe-se que após sua administração e hidrólise, o mecanismo desempenhado pela d-anfetamina ocorra por meio da liberação de norepinefrina e dopamina, assim como na inibição da enzima monoamina oxidase (MAO) e nos transportadores de norepinefrina (NET) por meio da modulação das vias da neurotensina (NT). Desse modo, eleva-se os níveis de NT e substância P (neuromodulador) no organismo, o que causaria então uma ação estimulante do SNC (Comiran, 2015).

As anfetaminas, de modo geral, apresentam tendência para o desenvolvimento de tolerância e dependência, o que ocasiona astenia, disforia e anergia, quando administrada de modo irregular, visto que a autoadministração desacompanhada de um profissional psiquiátrico para o estabelecimento da dose correta, força os sujeitos aos efeitos advindos do seu uso indiscriminado. (Okamura, 2019). Desse modo, o uso indevido de substâncias como o DEX, consiste em uma realidade da sociedade hodierna, e seus efeitos colaterais tais como o aumento da pressão arterial, cefaleia, anorexia, dor abdominal e ataques de pânico, além das diversas alterações psicossomáticas que o medicamento pode causar no organismo, torna extremamente relevante a realização de pesquisas acerca dos efeitos citotóxicos dessas substâncias em modelos animais compatíveis com o ser humano.

Define-se como citotoxicidade, como a capacidade de uma determinada substância provocar danos em um organismo vivo. Dessa forma, antes da comercialização de fármacos, é de suma importância ter o conhecimento do possível potencial nocivo que pode advir de seus compostos, a fim de permitir a criação de propostas capazes de estabelecer o uso seguro de tais substâncias químicas (Valadares, 2006). Para tanto, é necessário determinar os pontos finais de toxicidade, a relação dose-resposta e os mecanismos pelos quais ela se dá (Souza, 2019). Tais elementos são avaliados cientificamente por testes que mensuram a toxicidade aguda e/ou crônica, observando seus efeitos a curto prazo de doses elevadas e a longo prazo de doses moderadas a leves, respectivamente (Braunbeck et al., 2014).

Desse modo, busca-se modelos biomédicos que sejam compatíveis com pesquisas que avaliem a toxicidade aguda ou crônica, como as metodologias que utilizam a análise de microcrustáceo (*Artemia salina*), células em cultura e pequenos roedores, como ratos Wistar. Esses ensaios são válidos, pois os efeitos produzidos por um composto nos animais de laboratório são aplicáveis ao homem, em virtude da semelhança entre os códigos genéticos utilizados como modelo experimental (Cruz, Silva, Menezes, 2019). Nesse ínterim, George Streisinger, biólogo e professor da Universidade de Oregon, descobriu a possibilidade do uso do *zebrafish* (ZF) como modelo animal, uma vez que o mesmo consista em um teleosteo da família Cyprinidae (Sant'Anna, 2009) que apresenta semelhança evolutiva e genética compatível com 70% do genoma humano, o que permite a comparação segura a partir da utilização do seu modelo (Zorzetto, 2013) em estudos visando à cura de doenças genéticas, tais como depressão, esquizofrenia e mal de Parkinson. Além disso, apresenta diversas características morfológicas e fisiológicas semelhantes às do ser humano, tais como fibras musculares, sistema nervoso central, sistema esquelético complexo, células hematopoiéticas múltiplas e sistema cardiovascular (Lieschke & Currie, 2007).

Para tanto, o ZF absorve facilmente compostos químicos presentes na água, que se difundem através da pele e das brânquias, o que possibilita estudos principalmente sobre o sistema nervoso central. Dentre as possibilidades de pesquisa, destacam-se as que envolvem a formação de circuitos neuronais e formação dos padrões de comportamento - assim como seus distúrbios - permitindo a realização de estudos toxicológicos (Chu & Bambino, 2017). Nesse sentido, dentre os transtornos de neurodesenvolvimento, destaca-se o Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), pelo seu crescimento surpreendente no número de casos nas últimas décadas em crianças, adolescentes e, até mesmo, adultos. Uma das medicações mais utilizadas para o tratamento do TDAH é o Dimesilato de Lisdexanfetamina (DEX), conhecido com o nome comercial de Venvanse®.

Devido ao aprimoramento das técnicas diagnósticas e o conseqüente aumento do reconhecimento dessa patologia, é notável o crescimento progressivo do consumo deste psicoestimulante entre jovens e adultos, a fim de aumentar a capacidade cognitiva e desempenho intelectual. Embora a prescrição de tal fármaco tenha como objetivo o tratamento de TDAH, o mesmo tem sido amplamente utilizado por indivíduos saudáveis, muitas vezes sem prescrição e com outras finalidades, apesar de seus efeitos adversos, possivelmente citotóxicos (Okamura, 2019). Diante do exposto, o objetivo deste estudo é ponderar e qualificar estudos e ensaios de pesquisas que comprovam a aplicabilidade do ZF como modelo experimental para análise de citotoxicidade.

2. Metodologia

A presente pesquisa foi desenvolvida durante a disciplina de Habilidades Gerais, do curso de Medicina da Faculdade Anhanguera - Uniderp. Foi realizada uma revisão integrativa, com abordagem retrospectiva, utilizando-se análise de teses, dissertações e artigos sobre o tema. O material analisado foi produzido no Brasil e no exterior entre os anos de 2005 e 2021, além de estender-se por conteúdos produzidos em língua portuguesa e inglesa. Considerando os objetos do estudo, os artigos referentes à temática abordada foram pesquisados no banco de dados das bibliotecas eletrônicas SciELO, LILACS, Google Scholar e Medline, no período de setembro de 2019 a março de 2021. Ademais, sendo essa uma pesquisa de abordagem qualitativa, considera-se à priori que, “Os dados coletados são designados qualitativos (...) porque são ricos em pormenores

descritivos” segundo Bogdan e Biklen (1994, p16). Desse modo, o levantamento bibliográfico permeado pela revisão integrativa, possibilita a investigação do fenômeno a ser pesquisado em todos os graus de sua complexidade, o que propicia uma coleta de dados mais aprofundada com os indivíduos previamente selecionados.

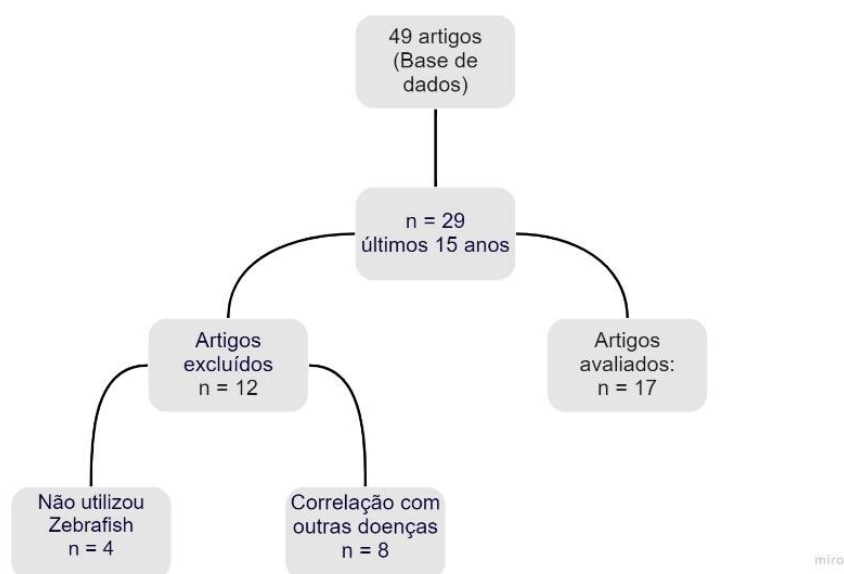
Segundo o detalhamento desenvolvido da pesquisa, a mesma se compõe de três fases fundamentais, sendo elas: a. Pré-análise: onde há a organização do material de forma operacional, que na pesquisa em questão foi organizada através de agrupamentos de bibliografias em comum. (Bardin, 2010). b. Exploração do material: os dados foram agrupados em uma tabela, compreendendo: autor, data, modelo, problemática, objetivo e conclusão dos artigos previamente selecionados. c. Tratamento do resultado, inferência e interpretação: os fatores tabulados ao longo dos resultados foram devidamente analisados e foram expostos de forma descritiva.

Como critérios de inclusão, levou-se em consideração as bases eletrônicas previamente enumeradas na metodologia, utilizando-se conjuntamente de descritores 'zebrafish', “Lisdexanfetamina”, “toxicidade” e “ZF”. Ademais, revisões, artigos e manuscritos que não apresentaram correlações com os descritores mencionados, não foram considerados para este estudo, o que justifica os critérios de exclusão.

3. Resultados e Discussão

Após a utilização dos descritores “zebrafish”, “citotoxicidade” e “lisdexanfetamina” pesquisados no banco de dados de bibliotecas eletrônicas como ScieLO, LILACS, Google Scholar e Medline, foram relatados 49 artigos, após a seleção dos últimos 15 anos, obtivemos 29 artigos. Destes, 12 foram excluídos por não abordarem o tema proposto para esta abordagem. Dos 12 excluídos, apenas 4 não utilizaram o Zebrafish como modelo biomédico. Os outros 8 excluídos, relatavam correlações com outras doenças, como câncer (Figura 1).

Figura 1. Distribuição dos artigos encontrados nos últimos 15 anos nas bases de dados destacadas, com os descritores: “zebrafish”, “citotoxicidade” e “lisdexanfetamina”.



Fonte: Autores.

Sendo 17 selecionados para a elaboração de uma tabela com a finalidade de apresentar uma correlação e visualização, entre o zebrafish, lisdexanfetamina e toxicidade, utilizando-se dos descritores já apresentados na seção materiais e métodos do

presente artigo, o mesmo possibilitou a realização de uma abordagem ampla dos trabalhos já produzidos acerca da temática do presente artigo sobre a eficácia do zebrafish como modelo biomédico para a avaliação da toxicidade do DEX.

Quadro 1: Estudos com *zebrafish* e sua relação com toxicidade e lisdexanfetamina.

Autor	Data	Modelo	Problemática	Objetivo	Conclusão
Fernandes <i>et al.</i>	2020	Estudo do <i>Zebrafish</i> na vacina candidata ao COVID-19.	Estabelecimento de experimentos em um novo modelo animal para verificar segurança e resposta imune pelo antígeno da vacina COVID-19.	Analisar a geração de resposta humoral e formação de reações adversas e inflamatórias pela inserção de uma recombinante da proteína Spike SARS-CoV-2.	A análise estrutural e funcional do <i>Zebrafish</i> e da enzima conversora de Angiotensina 2 humana, o principal receptor humano de infecção viral apresentou similaridades marcantes. Além de a análise informática prever uma interação proteína-proteína do fragmento Spike SARS e a via toll-like, com tal fato permitindo maiores estudos sobre medicamentos farmacêuticos terapêuticos.
Astrogildo <i>et al.</i>	2018	Uso de modelos animais na perspectiva dos 3Rs.	Avaliar perspectivas conceituais dos 3Rs e seus complicadores no contexto dos estudos de comportamentos animais.	Explorar aspectos conceituais dos 3Rs, de sua concepção ao seu impacto na cultura científica brasileira, até seu complicador no que se refere ao comportamento animal.	O conceito de bem-estar animal (refinamento), se disseminou fortemente com o conceito dos 3Rs, sendo o animal imprescindível ao desenho, além de servir ao propósito do que se entende por “humanização”.
Chu <i>et al.</i>	2017	<i>Zebrafish</i> como modelo para análise de substâncias tóxicas capazes de trazer risco à saúde humana.	Elucidar quais alterações podem ser encontradas no modelo do <i>Zebrafish</i> diante das exposições ambientais.	Avaliar como o <i>Zebrafish</i> está sendo usado para detectar a presença de substâncias tóxicas e identificar exposições ambientais que afetam a saúde humana.	A combinação da produção de embriões com o rápido desenvolvimento permite a avaliação a curto prazo da toxicidade. Além disso, a facilidade e o custo baixo de levantar muitos indivíduos permitem uma investigação sobre efeitos latentes e resultados adversos em resposta à exposição a contaminantes ambientais.
Amaral	2015	<i>Zebrafish</i> como modelo de estudo para as bases desenvolvimentais da esquizofrenia.	Avaliar a regulação da via intracelular dopaminérgica.	Analisar o desbalanço na regulação das vias DARPP-32 e Akt, durante o neurodesenvolvimento através da do estado larval do <i>Zebrafish</i> .	A proximidade entre o desenvolvimento do circuito neuronal no estágio larval do <i>Zebrafish</i> se assemelha ao do cérebro humano, permitindo a observação de alterações em seu funcionamento.
Macrae <i>et al.</i>	2015	Neste trabalho, a segurança do TnP foi avaliada em testes toxicológicos investigativos usando o <i>Zebrafish</i> (<i>Danio rerio</i>) como modelo.	Avaliar a segurança do TnP em testes toxicológicos investigativos.	Reforçar a importância do <i>Zebrafish</i> como modelo de toxicologia investigativa para avaliar a toxicidade aguda, bem como cardiotoxicidade e neurotoxicidade de moléculas em a fase pré-clínica do desenvolvimento.	Os resultados destacam um amplo índice terapêutico e suas margens de segurança sem causar neurotoxicidade ou efeito cardiotoxico, o que se associa a capacidade do embrião de processá-lo e eliminá-lo.
Rodriguez <i>et al.</i>	2015	Uso do modelo do <i>Zebrafish</i> para detectar os impactos do estresse oxidativo celular.	Compreender os danos devido ao estresse oxidativo na atividade da acetilcolinesterase e seus efeitos nos embriões de <i>Zebrafish</i> .	Determinar o efeito antioxidante da vitamina C, do oxidante hidroperóxido de t-butila (tBOOH) e do organofosforado Clorpirifós (CPF), na transcrição e atividade do gene AChE em embriões de <i>Zebrafish</i> após 72h de exposição.	O acoplamento de endpoints comportamentais aliados com técnicas moleculares permite a determinação dos mecanismos por trás da neurotoxicidade e degeneração, bem como fornecer inúmeros meios para testar remédios e outras terapias.

Souza	2015	Estudo da toxicidade da nanoemulsão de álcool periférico (NPOH) sobre zebrafish.	Estudar a toxicidade e as relações dose-resposta da nanoemulsão do NPOH.	Avaliar a toxicidade determinada pela concentração letal, efeitos sobre comportamento e efeitos da administração aguda (48 horas) sobre parâmetros histológicos das brânquias, fígado e rins.	O Danio rerio permitiu a observação de alterações comportamentais em diferentes concentrações de NPOH, assim como diferentes taxas de mortalidade. Observando-se alterações dentro dos padrões histológicos, incluindo, portanto, a NPOH nos padrões de toxicidade observado para nanoformulações de fármacos e xenobióticos.
Braunbek <i>et al.</i>	2014	A origem, as aplicações e o futuro do teste de embrião de peixe (FET).	Compreender as aplicabilidades, assim como vantagens e desvantagens da utilização de embriões de Danio rerio em pesquisas científicas.	Analisar sua validação para testes em toxicidade, baseado na capacidade de metabolização de compostos juntamente com similaridade humana, em princípios legais da OECD, categorização pela Nova Diretriz Europeia 2010/63/EU de proteção animal relacionada a propósitos científicos.	Os embriões de zebrafish são capazes de metabolizar a maioria das substâncias da mesma maneira que os adultos. Além disso, Uma extensão dos endpoints para abranger também endpoints subletais torna o FET uma ferramenta poderosa para a detecção de teratogenicidade, atividade do tipo dioxina, genotoxicidade e mutagenicidade, neurotoxicidade, bem como várias formas de disfunção endócrina.
Simonete	2014	<i>Zebrafish</i> como modelo de estudo para testes comportamentais, de função motora básica e alterações sensoriais.	Avaliação de respostas comportamentais do ZF, como modelo de triagem de deficiências neurológicas.	Destacar ensaios comportamentais inexplorados a fim de auxiliarem estudos futuros.	O ZF é um modelo capaz de rastrear deficiências neurológicas, permitindo determinar os mecanismos por trás da neurotoxicidade e degeneração neuronal, bem como fornecer meios para testar drogas corretivas e outras terapias.
Zorzeto <i>et al.</i>	2013	Um peixe modelo	Avaliar a utilização do <i>Zebrafish</i> em pesquisas de neurociência e testes de medicamentos no Brasil.	Analisar a maior aplicabilidade do peixe zebrafish do que roedores para estudos in vivo.	A utilização do modelo permite a análise de informações com menores custos, tanto pelo modelo de reprodução quanto pela taxa de manutenção diária. Além de fornecer informações complementares devido a similaridade hormonal com os humanos.
Kyzar <i>et al.</i>	2013	Estudos acerca dos efeitos comportamentais de moduladores bidirecionais das monoaminas reserpina e d-ampetaminas no <i>Zebrafish</i> .	Estabelecimento da sensibilidade do <i>Zebrafish</i> para pesquisas acerca de distúrbios na regulação das monoaminas.	Analisar o potencial para investigar distúrbios cerebrais associados a desregulação de monoaminas, bem como os mecanismos patogênicos subjacentes à comorbidades de abuso de drogas e ansiedade.	O estudo demonstra a alta sensibilidade do <i>Zebrafish</i> para drogas de modulação bidirecional do sistemas de monoaminas cerebrais com ênfase na utilização do <i>Zebrafish</i> como modelo para pesquisas em psicofarmacologia.
Tierney	2011	<i>Zebrafish</i> como modelo de estudo para testes comportamentais, de função motora básica e alterações sensoriais.	Avaliação de respostas comportamentais do <i>Zebrafish</i> , como modelo de triagem de deficiências neurológicas.	Destacar ensaios comportamentais inexplorados a fim de auxiliarem estudos futuros.	O <i>Zebrafish</i> é um modelo capaz de rastrear deficiências neurológicas, permitindo determinar os mecanismos por trás da neurotoxicidade e degeneração neuronal, bem como fornecer meios para testar drogas corretivas e outras terapias.
Souza <i>et al.</i>	2011	<i>Zebrafish</i> como modelo para detectar alterações GABAérgicos, atividade do receptor de dopamina D2, modulação de Akt e comportamento motor em larvas.	Estabelecimento de quais alterações envolvem a transmissão da dopamina do sistema GABAérgico.	Avaliar no modelo de <i>Zebrafish</i> o impacto direto da sinalização alterada da dopamina no desenvolvimento do cérebro e no comportamento motor das larvas.	Demonstrou-se que a ativação do receptor D2 suprime agudamente a atividade de Akt, diminuindo o nível de pAkt(Thr308) no cérebro larval do <i>Zebrafish</i> . Esta redução dependente de D2 na atividade de Akt regula negativamente o movimento larval e é distinta de uma via dependente de D1 com efeitos opostos no comportamento motor.

Lieschke <i>et al.</i>	2007	Modelos animais de doenças humanas: uma revisão sobre o <i>Zebrafish</i> .	Avaliar a utilização do zebrafish como modelo para estudo de doenças humanas.	Destacar as limitações biológicas pela utilização de ratos em trabalhos de larga escala de efeitos genéticos e terapêuticos em comparação ao peixe.	O modelo de estudo com o peixe vem ganhando destaque na pesquisa principalmente para estudos de desenvolvimento e toxicológicos. Suas características biológicas os tornam um modelo atraente de estudo em genética de vertebrados. Com triagens mutagênicas químicas gerando mutantes de zebrafish com defeitos análogos a doenças genéticas humanas.
Thirumalai <i>et al.</i>	2008	Estudo das larvas de Zebrafish expostas a dopamina endógenas.	A exposição do zebrafish à dopamina exógena pode interferir no mecanismo de natação.	Descrever o efeito supressor da dopamina nos circuitos e natação do <i>Zebrafish</i> .	As larvas expressam mudanças marcantes de comportamento de natação após 3 dias de fertilização. Um bloqueador da recaptação de dopamina aboliu episódios espontâneos de natação, assim como um antagonista dos receptores D2, apesar de não ter efeito na frequência dos episódios.
Hill <i>et al.</i>	2005	<i>Zebrafish</i> como modelo vertebrado para investigação de toxicidade química.	Apresentar uma visão geral do uso do <i>Danio Rerio</i> como modelo em toxicologia na utilização de novos medicamentos e a compressão dos seus mecanismos químicos e tóxicos.	Avaliar a aplicabilidade do <i>Zebrafish</i> como modelo de pesquisa em toxicidade celular.	Elencar a possibilidade de compreensão dos mecanismos de toxicidade dos químicos, além de auxiliar na descoberta de novos medicamentos terapêuticos.

Fonte: Arquivo pessoal.

Dessa forma, salienta-se que a utilização do ZF para a observação do desenvolvimento neurológico, cardíaco e gastrointestinal, assim como alterações citológicas e de comportamento, demonstra maior vantagem se comparado com outros modelos biomédicos com a mesma finalidade. Ademais, o baixo custo e a capacidade de adequar a pesquisa às demandas éticas atuais por meio da aplicação da premissa dos ‘3Rs’ fazem com que a aplicação desse modelo na prática seja altamente vantajosa (Astrogildo, 2018).

O conhecimento o funcionamento das vias dopaminérgicas e das consequências de sua exposição a quantidades indevidas da droga pode explicar a morfologia da manifestação de desordens neuropsiquiátricas relacionadas com o desequilíbrio e disfunção das monoaminas, uma vez que o DEX possui o poder de alterar as concentrações nos níveis de monoaminas cerebrais, o que aumenta a hiperatividade e ansiedade (Kyzar et al. (2013), fatores que podem ser analisados em modelos ZF desde seu estado larval (Souza et al., 2011).

Assim, os diversos estudos encontrados além de evidenciarem a semelhança morfológica do desenvolvimento do SNC do ZF e do ser humano - principalmente no que diz respeito aos receptores de monoaminas - possibilitam estudos além da toxicidade, como mutagenicidade, neurodegeneração e comportamento, visto que se identificou semelhanças funcionais entre o SNC do ZF e homo sapiens. (Simonetti, 2014). Com isso, espera-se contribuir com a discussão acadêmica sobre o uso do *Danio Rerio* como modelo experimental nos estudos dessa substância, assim como com a construção do como sobre os potenciais efeitos nocivos do uso incorreto de medicamentos atuantes no Sistema Nervoso Central. Um ponto importante evidenciado em todos os artigos utilizados foi seu baixo custo financeiro comparado aos demais modelos animais (0,60 centavos a unidade) e sua alta taxa de fecundidade, gerando embriões que possuem uma rápida maturação sexual, entre três e seis meses (Hill et al., 2005). Tais características possibilitam a obtenção de centenas de ovos que se desenvolvem externamente, são transparentes e maiores que de outras espécies de peixes, dessa forma, esse modelo permite uma grande amostra de resultados a fim de tornar o experimento o mais fidedigno possível. Por fim, é importante ressaltar que o modelo absorve facilmente compostos químicos presentes na água, que se difundem através da pele e brânquias, possibilitando estudos principalmente sobre o Sistema Nervoso

Central, indo de encontro a finalidade do presente artigo - compreender as alterações provocadas pela lisdexanfetamina no SNC, tornando o ZF um excelente modelo experimental.

Ademais, destaca-se a importância cada vez maior de estudos que envolvam a toxicidade aguda e crônica e seus efeitos (Braunbeck et al., 2014), sobretudo levando em consideração a droga de escolha do estudo, o DEX, o qual vem sendo utilizado por pessoas saudáveis de forma indiscriminada, sem prescrição médica e indicação clínica, com o objetivo de aumentar a capacidade e desempenho cognitivo (Okamura, 2019). Assim, percebeu-se que apesar das diferenças anatômicas induzirem a não existir semelhanças com o organismo humano, o ZF demonstrou grande valia para as pesquisas, uma vez que apresenta diversas características morfológicas e fisiológicas semelhantes às dos seres humanos (Lieschke & Currie, 2007), cabendo destacar, a compatibilidade genética do peixe de 70% com genoma humano (Zorzetto, 2013).

Com isso, evidenciou-se, como o citado modelo experimental é versátil e se mostrou satisfatório e promissor para que sejam analisados a toxicidade de drogas psicoestimulantes, mostrando vantagens consideráveis em relação a outros modelos para esse fim, como fácil manuseio, baixos custos de pesquisa, tempo de experimento reduzido (devido ao curto ciclo de vida do peixe) e embriões transparentes (facilitando visualização interna dos efeitos medicamentosos).

4. Considerações Finais

Verificou-se que o ZF é uma boa alternativa para estudos de biossegurança devido ao seu pequeno tamanho, formação genética, baixo custo de compra e manutenção, maior capacidade de reprodução e principalmente, devido às semelhanças de suas vias moleculares e fisiológicas as dos humanos. Além disso, o *Danio rerio* é um modelo potente e eficaz para rastrear deficiências neurológicas, o que permite determinar os mecanismos por trás da neurotoxicidade e degeneração celular, bem como fornecer meios para a testagem de drogas e terapias corretivas.

Assim sendo, sua utilização como modelo biomédico é de extrema importância para as drogas psicoestimulantes e mais pesquisas e investimentos devem ser realizados a fim de monitorar tais aspectos salientados pelas associações aqui descritas, visto que sua análise experimental, associado aos processos citotóxicos e a identificação destes mesmos processos celulares, confirma sua possibilidade de exploração no modelo na avaliação de outros tipos de drogas, dado pelas suas qualidades adentradas na ciência humana.

Referências

- Amaral, R. A. (2015). O zebrafish (*Danio rerio*) como modelo de estudo das bases desenvolvimentais da esquizofrenia: regulação da via intracelular dopaminérgica DARPP-32/Akt durante o neurodesenvolvimento. *Tese de Doutorado: Universidade Federal de Minas Gerais*.
- Astrogildo, T., & Tréz. (2018) Considerações sobre o conceito dos 3Rs e o potencial conflito com novas compreensões do animal experimental. *Revista Brasileira de Zootecias*, 19(2), 97-113.
- Bardin, L. (2010). *Análise de conteúdo*. (4a ed.), Edições 70.
- Bardin, L. (2006). *Análise de Conteúdo*. Tradução de Luís Antero Reto e Augusto Pinheiro. Edições 70.
- Braunbek, T. et al. (2014). The fish embryo test (FET): origin, applications, and future. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(21), 16247-16261.
- Chu, J., & Bambino, K. (2017). Zebrafish in Toxicology and Environmental Health. *Curr Top Dev Biol*, 124, 331-367.
- Comiran, E. (2015). Lisdexanfetamina: desenvolvimento e validação de métodos bioanalíticos por cromatografia líquida acoplada a detector de massas e avaliação farmacocinética preliminar. *Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas*, 21-23.
- Cruz, T. K. O., Silva, J. L. V., Menezes, M. E. B. O. (2019). Metodologias de estudos toxicológicos pré-clínicos: *in vivo* e *in vitro*. In: Oliveira, T. K. B.; Silva Junior, P. R.; Andrade Filho, J. A. Modelos experimentais [recurso eletrônico]: pesquisa com animais de laboratório. IFS.
- Fernandes, B. H. V.; et al. (2020). Zebrafish studies on the vaccine candidate to COVID-19, the Spike protein: 2 Production of antibody and adverse reaction. *BioRxiv*.
- Goodman, D. W. (2010). Lisdexamfetamine dimesylate (vyvanse), a prodrug stimulant for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pharmacy and Therapeutics*, 35(5).

- Hill, A.; Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R. (2005). Zebrafish as a model vertebrate for Investigating Chemical Toxicity. *Toxicological Sciences*.
- Ingelsrud, S. S. (2016). Efeito do tratamento com lisdexanfetamina no neurodesenvolvimento do rato e sua repercussão na fase adulta. 76 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Sobral.
- Junqueira, L. C. (2013). *Histologia básica I L.C. Junqueira e José Carneiro*. (12a ed.), Guanabara Koogan.
- Kyzar, E. *et al.* (2013). Behavioral effects of bidirectional modulators of brain monoamines reserpine and d-amphetamine in zebrafish. *Brain Res*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3865859>.
- Lieschke, G. & Currie, P. (2007). Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nat Rev Genet* 8.
- Macrae, C. A. & Peterson, R. T. (2015). Zebrafish as tools for drugs discovery. 14(10), 721-731. *Nat Rev Drug Discov*.
- Muakad, L. B. (2013). Anfetaminas e drogas derivadas. 108(1), 545-572. *Revista da Faculdade de Direito da Universidade de São Paulo*. <https://bdpi.usp.br/bitstream/handle/BDPI/43729/Anfetaminas%20e%20drogas%20derivadas.pdf;jsessionid=E1842D20E1146594E3BD71C1AE764631?sequence=1>.
- Mussulini, B.H. *et al.* (2013). Seizures Induced by Pentylentetrazole in the adult zebrafish: a detailed behavioral characterization. *PLoS One*, v. 8.
- Okamura, A. M. (2019). Análise comportamental e neuroquímica de ratos tratados com doses repetidas de lisdexanfetamina na infância e periadolescência. 107 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- Pan, T. F. & Herbing, I. H. (2017). Metabolic plasticity in development: Synergistic responses to high temperature and hypoxia in zebrafish, *Danio rerio*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 327(4), 189-199.
- Rodriguez-Fuentes, *et al.* (2015). Impacts of oxidative stress on acetylcholinesterase transcription, and activity in embryos of zebrafish (*Danio rerio*) following chlorpyrifos exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 172-173, p.19-25.
- Sant'anna, M. C. (2009). Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo para estudo da toxicidade induzida pelo ferro.
- Serpa, B. J. *et al.* (2019). D-Amphetamine Exposure Differentially Disrupts Signaling Across Ontogeny in the Zebrafish. *Bioelectricity*, 1(2), 85-104.
- Simonetti, R. B. (2014). Zebrafish (*Danio rerio*): futuro do modelo animal em pesquisa biomédica. *Trabalho de conclusão de graduação (Medicina Veterinária)*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p 42.
- Souza, G. C. (2015). Estudo da toxicidade da nanoemulsão de álcool perfílico (NPOH) sobre zebrafish (*Danio rerio* Hamilton, 1822). *Dissertação (Mestrado em Biologia Farmacêutica)*, Universidade Federal do Amapá, p 87.
- Sozua, M. A. (2019). Estudo bioeletroquímico sobre o zebrafish (*D. rerio*) de duas séries de derivados aminoguanidínicos. 2019. 97 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), *Instituto de Ciências Farmacêuticas*, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.
- Souza, B. R., Romano, M. A., & Tropete, V. (2011). Dopamine D2 receptor activity modulates Akt signaling and alters GABAergic neuron development and motor behavior in zebrafish larvae. *Journal of Neuroscience*.
- Thirumalai, V. & Cline, H. T. (2008). Endogenous dopamine suppresses initiation of swimming in prefeeding zebrafish larvae. *Journal Neurophysiology*.
- Tierney, K. B. (2011). Behavioural assessments of neurotoxic effects and neurodegeneration in zebrafish. Review: *Biochimica et Biophysica Acta* 1812.
- Valadares, M. C. (2006). Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias após a "Era do Teste DL50". *Revista Eletrônica de Farmácia*, 3(2), 93-98.
- Valvassori S. *et al.* (2015). Lithium modulates the production of peripheral and cerebral cytokines in an animal model of mania induced by dextroamphetamine. *Bipolar Disord*, 17(5), 507-517.
- Whalen, K. *Farmacologia ilustrada* [recurso eletrônico] / Karen Whalen, Richard Finkel, Thomas A. Panavelil. Tradução e revisão técnica: Augusto Langeloh. (6a ed.), Artmed, 2016.
- Zorzetto, R., & Guimarães, M. (2013). Um peixe modelo. (209a ed.), PESQUISA FAPESP.