

EFEITO DA DOSE PADRÃO DO QUIMIOTERÁPICO 5-FLUOROURACIL SOBRE O PULMÃO DE RATOS

Melissa Cumani Aragão (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Mariana Conceição da Silva (coorientador), Nilza Cristina Buttow (Orientador), e-mail: ra103533@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Ciências Biológicas: Morfologia/Histologia

Palavras-chave: 5-Fluorouracil, morfologia, inflamação.

Resumo:

O Câncer está entre as principais causas de morte na população mundial. Sendo a quimioterapia um dos tratamentos mais utilizados, e podemos citar o fármaco 5-fluorouracil (5-FU) como um quimioterápico favorável no tratamento de diversos tipos de tumores sólidos. Entretanto, dada a toxicidade do 5-FU em vários tecidos, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos do 5-FU sobre pulmões de ratos. Os animais foram submetidos a diferentes doses do fármaco durante 14 dias. Ao final do processo os pulmões foram coletados e as lâminas histológicas foram preparadas com colorações de Hematoxilina-Eosina (HE) e picrosirus-red. As análises de diferentes parâmetros ocorreram após a captura de imagens das lâminas. Os pulmões dos animais tratados com o quimioterápico apresentaram aumento dos infiltrados inflamatórios e focos hemorrágicos no tecido pulmonar. Além disso, a área alveolar sofreu redução enquanto o diâmetro da parede alveolar aumentou significativamente. Também nos animais tratados houve redução do colágeno de tipo I, III e total. Desta forma, o uso do 5-FU no tratamento de neoplasias interfere na morfologia dos pulmões em diversos parâmetros.

Introdução

O câncer ocupa o segundo lugar entre as principais causas de óbito no mundo e foi responsável por quase 10 milhões de mortes em 2020 (FERLAY et al., 2020). Um dos principais tratamentos para o câncer é a quimioterapia, que consiste no emprego de drogas que atuam impedindo a reprodução das células neoplásicas (SANTOS; CRUZ, 2001). Dentre os quimioterápicos, o 5-fluorouracil (5-FU) é amplamente utilizado devido ao seu custo acessível e efeito favorável em diversos tratamentos de tumores sólidos, principalmente no tratamento de câncer colorretal (CAPITAIN et al., 2008). No entanto, o fármaco não atua somente nas células neoplásicas e acaba gerando diversos efeitos colaterais (GREM, 2000). Os pulmões também podem sofrer com alterações causadas pela toxicidade do 5-FU, mas poucos estudos mostram isso (LEVITZKY, 2007). Levando em

consideração a baixa frequência de estudos associados aos efeitos lesivos do 5-FU nos pulmões, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos e alterações histológicas no pulmão de ratos submetidos ao tratamento clínico do quimioterápico 5-FU.

Materiais e métodos

Para o desenvolvimento deste projeto foram utilizados 14 ratos Wistar adquiridos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os procedimentos foram submetidos ao Comitê de Condução Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (CEUA, nº 4422140918) e fazem parte de um projeto de dissertação. Os 14 ratos foram divididos em dois grupos, um controle e outro tratado (n=7). Os tratados foram submetidos ao fármaco 5-FU com diferentes doses em um ciclo de 15 dias. Os animais do grupo controle foram tratados com veículo (solução salina 0,9%). Nos dois grupos a eutanásia dos animais ocorreu 24 horas após a administração da última dose.

O pulmão esquerdo foi coletado e fixado em Paraformaldeído 4% (pH 7,4) durante 24 horas. As amostras de pulmão foram desidratadas em séries crescentes de etanol, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Após este processo, o material foi cortado em micrótomo com 5 µm e mantido em lâminas para a realização do processo de coloração por Hematoxilina-Eosina (HE) e picrosirus-red. As imagens foram capturadas através de microscópio óptico com auxílio de sistema de captura e uma câmera de alta resolução. As lâminas coradas com HE foram capturadas 40 imagens por animal na objetiva de 4X para as análises dos focos hemorrágicos e infiltrados inflamatórios. Posteriormente, capturou-se 35 imagens por animal na objetiva de 20X para medida da espessura da parede do alvéolo e área alveolar. Para a espessura da parede do alvéolo foram necessárias 440 medidas por animal, já a área alveolar 300 medidas por animal. As lâminas coradas com picrosirus-red foram analisadas para quantificar as fibras colágenas do tipo I e do tipo III, sendo diferenciadas de acordo com a birrefringência. Utilizou-se de 30 imagens por animal no aumento de 20X no microscópio de luz do tipo trinocular com filtro de polarização e câmera acoplada. O resultado expresso foi o percentual de área apresentando colágeno em relação à área analisada.

A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism 7 e os resultados foram expressos como média ± erro padrão. Para a comparação entre os grupos, foi realizado o Test *t* de Student. Para dados não paramétricos foi realizado o teste *t* de Mann-Whitney. Para ambas as análises o valor de *p* menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significativo.

Resultados e Discussão

O grupo tratado com 5-FU apresentou alterações morfométricas em todos os parâmetros analisados. Nos animais tratados observou-se uma

redução significativa na quantificação do colágeno de tipo I e III, quando comparados aos controles. Esta redução pode ser devido ao metabolismo do 5-FU, que incorpora um pseudo-metabólito no RNA e DNA das células interferindo na síntese de proteínas (BULSTRODE et al., 2005).

Foi ~~constatada~~ **observada** uma elevação significativa na quantificação dos focos hemorrágicos e inflamatórios (infiltrados inflamatórios focais perivasculares e difusos no parênquima) no tecido pulmonar do grupo tratado em comparação ao controle. ~~Sabe-se que o 5-FU leva a morte celular por apoptose (XIE et al., 2020).~~ De acordo com Birnhuber et al. (2020), em um modelo experimental com camundongos utilizando palbociclib o elevado número de células inflamatórias no pulmão foi relacionado como consequência da parada no ciclo celular induzida pelo palbociclib. Assim como em nosso estudo, a hemorragia alveolar também já foi **relatada** ~~observada~~ após o uso do 5-FU (FERNANDEZ et al., 2018) e esta alteração pode ser causa do aumento da área alveolar após o uso do 5-FU observada em nosso estudo. Observou-se também, um aumento do diâmetro da parede alveolar (ZHAO et al., 2021).

Tabela 1

Análise	Controle	5-FU	Valor de p
Colágeno tipo I (%/área)	28616 ± 2325	13718 ± 813,2	<0,0001*
Colágeno tipo III (%/área)	9677 ± 1115	3872 ± 300,4	0,0003*
Foco hemorrágico (mm ²)	0 ± 0	39,99 ± 13,55	0,0121*
Infiltrado focal perivascular (mm ²)	202,1 ± 77,22	1342 ± 383,1	0,0129*
Infiltrado difuso no parênquima (mm ²)	13,57 ± 6,18 - 33,33	82,07 ± 26,25 - 137,9	0,0105*
Área alveolar	719,2 ± 50,19	531,4 ± 36,32	0,0104*
Diâmetro da parede alveolar	10 ± 0,4817	12,54 ± 0,4019	0,0016*

Conclusões

A dose clínica do quimioterápico 5-Fluoracil recomendada pelo fabricante provoca alterações histológicas pulmonares em ratos Wistar.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro. À minha orientadora Profa. Nilza e a Mariana por todo apoio e paciência no projeto.

Referências

BIRNHUBER, A EGEMNAZAROV, B.; BIASIN, V.; BONYADI RAD, E.; WYGRECKA, M.; OLSCHESKI, H. et al. CDK4/6 inhibition enhances pulmonary inflammatory infiltration in bleomycin-induced lung fibrosis. **Respiratory research**, v. 21 n.1 p. 167, 2020.

BULSTRODE, N. W.; MUDERA, V.; MCGROUTHER, D. A.; GROBBELAAR, A. O.; CAMBREY, A. D. 5-Fluorouracil Selectively Inhibits Collagen Synthesis. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 116, n. 1, p. 209-221, 2005

CAPITAIN, O.; BOISDRON-CELLE, M.; POIRIER, A. L.; ABADIE-LACOURTOISIE, S.; MOREL, A.; GAMELIN, E. The influence of fluorouracil outcome parameters on tolerance and efficacy in patients with advanced colorectal cancer. **Pharmacogenomics Journal**, v. 8, n. 4, p. 256–267, 2008.

FERLAY, J.; ERVIK, M.; LAM, F.; COLOMBET, M.; MERY, L.; PIÑEROS, M.; ZNAOR, A.; SOERIOMATARAM, I.; BRAY, F. Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: **Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer**, 2020. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>> Acesso em 21, agosto de 2021

FERNANDEZ-TRUJILLO, L.; DOMINGUEZ, A.; MARTINEZ, W.; SANABRIA, F.; LEIB, C. S. Pulmonary Toxicity Due to 5-Fluorouracil (5-FU) Manifested as Diffuse Alveolar Hemorrhage: Case Report. **Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, 10.13140/RG.2.2.30130.91847. 2018.

GREM, J. L. 5-Fluorouracil: Forty-plus and still ticking. A review of its preclinical and clinical development. **Investigational New Drugs**, v. 18, n. 4, p. 299–313, 2000.

LEVITZKY, M. G. **Pulmonary Physiology**, 7.ed. Unitd States of America: The McGrawHill Companies, 2007. Disponível em:<<https://silo.pub/pulmonary-physiology-lange-physiology.html>>. Acesso em: 21 agosto de 2021.

SANTOS, H. S.; CRUZ W. M. S. A terapia nutricional com vitaminas antioxidantes e o tratamento quimioterápico oncológico. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 3, p.303-8, 2001.

ZHAO, X.; ZHAO, B.; ZHAO, Y.; ZHANG, Y.; QIAN, M. Efeito protetor da anisodamina na lesão pulmonar aguda induzida por bleomicina em ratos imaturos via modulação do estresse oxidativo, inflamação e apoptose celular pela inibição da via JAK2 / STAT3. **Annals of Translational Medicine**, v. 9, n.10, p. 859, 2021.

30º Encontro Anual de Iniciação Científica
10º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



11 e 12 de novembro de
2021