

## DANOS OXIDATIVOS EM RATOS WISTAR NEONATOS INDUZIDOS POR VINCRISTINA: ANÁLISE DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA E TIÓIS NÃO PROTEICOS

ISABELLA ANDRADE DA SILVA<sup>1</sup>; KETLYN PEREIRA DA MOTTA<sup>2</sup>; ANA VITÓRIA BARBOSA LOPES<sup>3</sup>; TAISE CARLOS NUNES<sup>4</sup>; BRIANA BARROS LEMOS<sup>5</sup> ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [isabella.andrade2001@hotmail.com](mailto:isabella.andrade2001@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mottaketlyn@yahoo.com.br](mailto:mottaketlyn@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [barbosavitoria389@gmail.com](mailto:barbosavitoria389@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [taisecnunes@outlook.com](mailto:taisecnunes@outlook.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [brianabarros18@gmail.com](mailto:brianabarros18@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ethelwilhelm@yahoo.com.br](mailto:ethelwilhelm@yahoo.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

O fígado desempenha um papel essencial na metabolização de xenobióticos e na eliminação de seus metabólitos tóxicos. No entanto, a exposição a fármacos citotóxicos pode desencadear hepatotoxicidade, o que muitas vezes limita a aplicação clínica. Nesse caso, os danos hepáticos são comumente mediados por mecanismos inflamatórios e agravados pelo estresse oxidativo, que, associados, causam disfunção celular e comprometimento das funções hepáticas. (ALMAZROO et al., 2017).

Neste contexto, destacam-se os fármacos anticâncer, responsáveis por 10% das lesões hepáticas induzidas por xenobióticos (ANDRADE et al., 2019), incluindo medicamentos antimetabólitos, agentes alquilantes, e inibidores mitóticos e da topoisomerase (ALMAZROO et al., 2017). Notavelmente, os alcaloides da vinca, como a vincristina (VCR), são inibidores mitóticos amplamente metabolizados no fígado (DHYANI et al., 2022).

De fato, dentre os efeitos adversos induzidos pela VCR está a hepatotoxicidade. Estudos tem demonstrado que a VCR pode levar à incidência de Síndrome de Obstrução Sinusoidal capaz de causar oclusão por fibrose (não trombotica) das vênulas hepáticas (VALLA et al., 2016) - seja com altas doses ou em combinação com radiação (GANGLI., 2020). Além disso, devido a VCR ser frequentemente utilizada para o tratamento de carcinomas recorrentes na fase infantil, essas complicações hepáticas podem ser ainda mais prejudiciais podendo causar interrupção no tratamento (LIU et al., 2023). Logo, enfatiza-se que estas alterações durante a fase infantil e de desenvolvimento em órgãos vitais como o fígado, podem comprometer significativamente o desenvolvimento e fase adulta do paciente (SILVEIRA et al., 2021).

Considerando a necessidade de compreender melhor a toxicidade hepática causada pela VCR em pacientes oncológicos pediátricos, o presente estudo foi desenvolvido. Nosso objetivo foi avaliar o dano oxidativo hepático induzido pela administração de VCR em ratos neonatos machos e fêmeas através da análise de marcadores de dano oxidativo.

### 2. METODOLOGIA

## 2.1 Protocolo Experimental

O protocolo seguiu o método descrito por SHAPPACHER et al., 2019 com modificações. Ratos neonatos da linhagem Wistar machos e fêmeas foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 038650/2021-19) e mantidos em condição padrão. Os ratos machos e fêmeas foram divididos em dois grupos experimentais cada: (I) Neonatos Controle; (II) Neonatos + VCR. O protocolo experimental foi iniciado a contar do dia do nascimento dos animais. No 11º dia de vida, os ratos do grupo II receberam a indução com VCR (60 mg.kg<sup>-1</sup>, via intraperitoneal), enquanto o grupo controle (I) recebeu o veículo (soro fisiológico 0,9%, 10 ml.kg<sup>-1</sup>, intraperitoneal). No 25º dia, os animais foram anestesiados e submetidos à eutanásia com uma sobredose de isoflurano. O fígado foi coletado para posteriores análises bioquímicas.

## 2.2 Análises Bioquímicas

As amostras de fígado foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) e posteriormente centrifugadas a 900 xg por 10 minutos para obtenção do sobrenadante (S<sub>1</sub>). Os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinados de acordo com o método descrito de OHKAWA et al (1976). Os níveis de tióis não proteicos (NPSH) foram determinados conforme metodologia descrita por ELLMAN (1959).

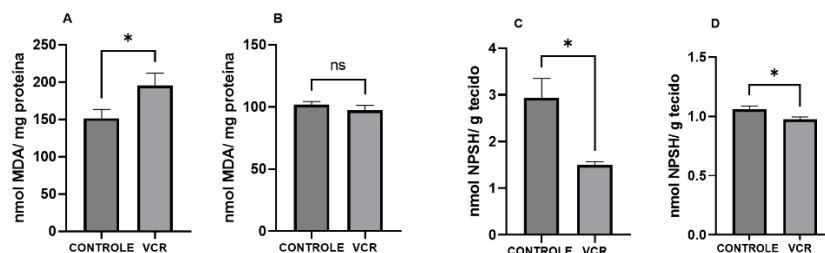
## 2.3 Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de normalidade de D'Agostino e Pearson. A análise estatística foi realizada usando o software GraphPad Prism 7.0 (San Diego, CA, EUA). Teste-t não pareado foi empregado para análise estatística. Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. A significância estatística foi definida como P < 0,05.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fígado tem papel importante na desintoxicação e metabolismo de medicamentos. Sendo assim, o papel metabólico do fígado o torna particularmente suscetível a danos induzidos pela quimioterapia. (TORRI et al., 2021).

No presente estudo, verificamos que a VCR aumentou os níveis de TBARS no fígado de ratos fêmeas (Figuras 1A). Enquanto isso, não houve diferença nos níveis de TBARS no fígado de ratos machos (Figura 1B). Em relação a peroxidação lipídica, o malondialdeído (MDA) pode ser utilizado como indicador da ação dos radicais livres no organismo e é o principal fragmento de lipoperoxidação mensurado no TBARS (CORDIANO et al., 2023). Observamos neste sentido que o dano oxidativo gerado pela ação da VCR está afetando de forma mais proeminente em fêmeas



**FIGURA 1.** Efeito da administração de vincristina (VCR) nos níveis de TBARS no fígado de ratos (A) fêmeas e (B) machos e nos níveis de NPSH no fígado de ratos (C) fêmeas e (D) machos. Os dados foram apresentados como

média  $\pm$  erro padrão da média de 8 animais por grupo. (\*) denota  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle (teste-t não pareado)

O conteúdo de NPSH se constitui como um marcador de dano oxidativo não-enzimático. O grupamento tiol ( $-SH$ ) é extremamente sensível ao ataque de radicais livres (DEMIRCI-CEKIC et al., 2022). Na Figura 1, é possível observar que os níveis de NPSH nas amostras de fígado de ratos fêmeas (C) e machos (D) foram reduzidos pelo tratamento com a VCR.

A toxicidade hepática está associada à utilização de diversos quimioterápicos, contudo, em graus variados, apresentando desde elevações transitórias de enzimas hepáticas até cirrose e fibrose (RAMADORI, et al., 2010). As alterações leves e moderadas, algumas vezes, reverterem-se com a interrupção do uso da droga (MAOR et al., 2023). No entanto, observamos que, no tecido hepático de ratos submetidos à VCR na fase infantil, os níveis de NPSH foram notavelmente depletados após a exposição ao quimioterápico tanto em machos quanto em fêmeas.

A glutatona reduzida (GSH) é o principal NPSH quantificado no teste (THIRUMOORTHY et al., 2022). Observamos que a diminuição do conteúdo de GSH pode afetar diretamente o ciclo da glutatona o qual é fundamental para a metabolização hepática de xenobióticos, podendo contribuir para o desenvolvimento de hepatotoxicidade (VAN METER et al., 2022).

Além disso, é válido destacar que este estudo não se limita a análise de dois parâmetros representativos de estresse oxidativo, TBARS e NPSH. Ensaio adicionais estão sendo executados para complementar o estudo. De fato, os danos induzidos pela VCR em ratos neonatos é um campo escasso de investigações científicas. O estudo dos potenciais efeitos adversos de curto, médio e longo prazo, em crianças sobreviventes de câncer que foram tratados com VCR, representam um desafio que necessita mais investigação e conhecimento.

#### 4. CONCLUSÕES

Perante os resultados encontrados, verificamos que os ratos expostos a VCR na fase neonatal desenvolveram alterações hepáticas relacionadas ao dano oxidativo. Verificamos que a peroxidação lipídica foi mais pronunciada em fêmeas, e a depletação do conteúdo de NPSH foi comum a ambos os sexos expostos a VCR. Vale mencionar ainda que mais estudos são necessários para explorar a ação da VCR a nível hepático. Dentre estes estudos, almeja-se investigar marcadores de lesão hepática (aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)) que podem indicar um panorama geral do funcionamento deste tecido.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMAZROO, Omar A; MIAH, Mohammad K; VENKATARAMANAN, Raman. Drug metabolism in the liver. **Clinics in Liver Disease**, v. 21, n. 1, p. 1-20, 2017.
- ANDRADE, Raul J. et al. Drug-induced liver injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 58, 2019.
- CORDIANO, Raffaele et al. Malondialdehyde as a potential oxidative stress marker for allergy-oriented diseases: an update. **Molecules**, v. 28, n. 16, p. 5979, 2023.

DEMIRCI-CEKIC, Sema et al. Biomarcadores de estresse oxidativo e defesa antioxidante. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 209, p. 114477, 2022.

DHYANI, Praveen et al. Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. **Cancer Cell International**, v. 22, n. 1, p. 206, 2022.

GANGI, Alexandra; LU, Shelly C. Chemotherapy-associated liver injury in colorectal cancer. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 13, p. 1756284820924194, 2020.

GEȢOTEK, Agnieszka; SKRZYDLEWSKA, Elżbieta. Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 221, p. 46-52, 2019.

LIU, Yan et al. Liver injury in children: signal analysis of suspected drugs based on the food and drug administration adverse event reporting system. **BMC pediatrics**, v. 23, n. 1, p. 492, 2023.

MAOR, Y.; MALNICK, S. Liver injury induced by anticancer chemotherapy and radiation therapy. **International Journal of Hepatology**, v. 2013, n. 1, p. 815105, 2013.

RAMADORI, Giuliano; CAMERON, Silke. Effects of systemic chemotherapy on the liver. **Annals of Hepatology**, v. 9, n. 2, p. 133-143, 2010.

SCHAPPACHER, Katie A. et al. Neonatal vincristine administration modulates intrinsic neuronal excitability in the rat dorsal root ganglion and spinal dorsal horn during adolescence. **Pain**, v. 160, n. 3, p. 645-657, 2019.

SILVEIRA, Fernanda Modesto et al. Impact of chemotherapy treatment on the quality of life of patients with cancer. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 34, p. eAPE00583, 2021.

THIRUMOORTHY, N. et al. Glutathione as Oxidative Stress Marker in Cancer. **Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Mechanistic Aspects**, p. 353-372, 2022.

THOMPSON, Wendy L.; TAKEBE, Takanori. Human liver model systems in a dish. **Development, Growth & Differentiation**, v. 63, n. 1, p. 47-58, 2021.

TORRI, Giovanni Brondani et al. Imaging of chemotherapy-induced liver toxicity: an illustrated overview. **Hepatic Oncology**, v. 8, n. 4, p. HEP32, 2021. VALLA, Dominique-Charles; CAZALS-HATEM, Dominique. Sinusoidal obstruction syndrome. **Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology**, v. 40, n. 4, p. 378-385, 2016.

VAN METER, Robin J. et al. Induced hepatic glutathione and metabolomic alterations following mixed pesticide and fertilizer exposures in juvenile leopard frogs (*Lithobates sphenoccephala*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 122-133, 2022.