



IV Mostra de Pesquisa  
da Pós-Graduação  
PUCRS

## Participação dos Receptores Purinérgicos P2X7 na Cistite Hemorrágica Induzida pela Ciclofosfamida em Camundongos

Jerônimo Pietrobon Martins, Fernanda Bueno Morrone (Co-orientadora), Maria Martha Campos (orientadora)

*Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, PUCRS,*

### Resumo

#### Introdução

Os nucleotídeos extracelulares são importantes moléculas sinalizadoras que medeiam muitos eventos biológicos, através da ativação de receptores purinérgicos. O ATP é gerado em resposta ao dano celular durante a inflamação (Burnstock et al., 2006). O receptor P2X7 tem um papel essencial na inicialização ou manutenção de alterações patológicas, como um resultado de danos inflamatórios (Chessel et al., 2005). A cistite hemorrágica (CH) é um efeito adverso bastante conhecido causado pela ciclofosfamida (CYP), que é frequentemente usada no tratamento de pacientes com tumores sólidos. Estes efeitos urotóxicos são atribuídos ao metabólito tóxico da CYP, chamado acroleína, podendo ser parcialmente prevenidos pela 2-mercaptoetanosulfonato de sódio (Mesna) (Morais et al., 1999). O presente estudo tem como objetivo determinar o papel dos receptores P2X7 no modelo de CH induzida pela aplicação de CYP em camundongos.

#### Metodologia

Foram utilizados camundongos machos *Swiss* (25 a 30 g). A CH foi induzida por uma única administração de CYP (300 mg/kg, i.p.). Diferentes grupos animais foram tratados com o antagonista seletivo dos receptores P2X7, A438079 (100 µmol/kg) (McGaraughty et al., 2007) ou, com Mesna (60 mg/kg) (Kanat et al. 2006), 30 mins antes e 4 h depois da aplicação da CYP. Animais controle receberam veículo no mesmo esquema de administração. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética local (08/00074, CEUA, PUCRS).

Imediatamente após a injeção i.p. de CYP, os camundongos foram colocados em caixas individuais a fim de se observar o comportamento espontâneo, durante 4 h, por 2 min,

a cada meia hora. Foram considerados três parâmetros comportamentais (Wantuch et al., 2007): (i) atividade (caminhar, levantar-se nas patas traseiras, escalar); (ii) imobilidade e; (iii) comportamentos indicativos de nocicepção visceral. Além disso, o comportamento dos camundongos também foi pontuado de acordo com a escala a seguir: 0 = normal; 1 = piloereção; 2 = forte piloereção; 3 = respiração forçada; 4 = lambar o abdômen e, 5 = estiramento ou contração do abdômen (Olivar et al., 1999). Foi também realizada uma análise macroscópica das bexigas, 6 h após a indução da CH, a fim de determinar a presença de edema e hemorragia. Neste intervalo de tempo, também foi registrado o peso das bexigas (em g por 100 g de peso corporal) (Gray et al., 1986).

## Resultados e Discussão

Os resultados do presente estudo mostram que o pré-tratamento com o antagonista seletivo do receptor P2X7, o A438079, inibiu o comportamento nociceptivo induzido pela CYP ( $33 \pm 15\%$ ). Além disso, a administração de A438079 produziu uma redução dos índices de edema ( $32 \pm 7\%$ ) e hemorragia ( $44 \pm 10\%$ ), na avaliação macroscópica. Interessante, o tratamento com A438079 reduziu de forma marcante o peso da bexiga ( $42 \pm 8\%$ ). O tratamento com Mesna (controle positivo) também foi capaz de reduzir de forma significativa o edema, a hemorragia e o peso das bexigas ( $92 \pm 7\%$ ,  $76 \pm 16\%$  e  $50 \pm 18\%$ , respectivamente).

Os resultados obtidos indicam a relevância dos receptores P2X7 na CH induzida pela CYP. É possível sugerir que a inibição farmacológica destes receptores poderia representar uma nova alternativa terapêutica para prevenir os efeitos colaterais associados à quimioterapia com CYP.

## Referências

- BURNSTOCK G. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signaling. *Pharmacological reviews* 2006;58(1):58-86.
- CHESSELL I. P., HATCHER J. P., BOUNTRA C., MICHEL A. D., HUGHES J. P., GREEN P., EGERTON J., MURFIN M., RICHARDSON J., PECK W. L., GRAHAMES C. B.A., CASULA M. A., YIANGOU Y., BIRCH R., ANAND P., BUELL G. N. Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain. *Pain* 2005; 114, 386–396.
- GRAY KJ, ENGELMANN UH, JOHNSON EH, FISHMAN IJ. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (Cytosan) therapy. *J Urol* 1986; 136: 497-500.
- KANAT O., KURT E., YALCINKAYA U., EVRENSSEL T., MANAVOGLU O. Comparison of uroprotective efficacy of mesna and amifostine in Cyclophosphamide- induced hemorrhagic cystitis in rats. *Indian Journal of Cancer* 2006; 43, 1.

MORAIS M.M., BELARMINO-FILHO J.N., BRITO G.A.C., RIBEIRO R.A. Pharmacological and histopathological study of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis - comparison of the effects of dexamethasone and Mesna. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1999; 32: 1211-1215.

MCGARAUGHTY S., CHU K. L., NAMOVIC M. T., DONNELLY-ROBERTS D. L., HARRIS R. R., ZHANG X.-F., SHIEH C.-C., WISMER C. T., ZHU C. Z., GAUVIN D. M., FABIYI A. C., HONORE P., GREGG R. J., KORT M. E., NELSON D. W., CARROLL W. A., MARSH K., FALTYNEK C. R., JARVIS M. F. P2X7-related modulation of pathological nociception in rats. *Neuroscience* 2007; 146, 1817 – 1828.

OLIVAR T., LAIRD J. M.A. Cyclophosphamide cystitis in mice: behavioural characterisation and correlation with bladder inflammation. *European Journal of Pain* 1999; 3: 141–149

WANTUCH C., PIESLA M., LEVENTHAL L. Pharmacological validation of a model of cystitis pain in the mouse. *Neuroscience Letters* 2007; 421, 250–252.