



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

FELIPE HENRIQUE DOS SANTOS BARBOSA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINEOPLÁSICO DO DERIVADO
TIAZOLIDÍNICO CR-35 EM UM MODELO DE NEOPLASIA
PULMONAR ASSOCIADO AO TABAGISMO**

Recife
2025

FELIPE HENRIQUE DOS SANTOS BARBOSA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINEOPLÁSICO DO DERIVADO
TIAZOLIDÍNICO CR-35 EM UM MODELO DE NEOPLASIA
PULMONAR ASSOCIADO AO TABAGISMO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Michelly Cristiny
Pereira

Coorientador: Eraldo Fonseca dos
Santos Junior

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Barbosa, Felipe Henrique dos Santos.

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINEOPLÁSICO DO DERIVADO
TIAZOLIDÍNICO CR-35 EM UM MODELO DE NEOPLASIA PULMONAR
ASSOCIADO AO TABAGISMO / Felipe Henrique dos Santos Barbosa. -
Recife, 2025.

44 p. : il., tab.

Orientador(a): Michelly Cristiny Pereira

Coorientador(a): Eraldo Fonseca dos Santos Junior

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências, anexos.

1. Oncologia. 2. Inovação terapêutica. 3. Derivados tiazolidínicos. I. Pereira,
Michelly Cristiny . (Orientação). II. Junior, Eraldo Fonseca dos Santos.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

FELIPE HENRIQUE DOS SANTOS BARBOSA

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINEOPLÁSICO DO DERIVADO TIAZOLIDÍNICO CR-35 EM UM MODELO DE NEOPLASIA PULMONAR ASSOCIADO AO TABAGISMO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 21/08/2025

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a Michelly Cristiny Pereira

UFPE/ DFF

Documento assinado digitalmente
 THIAGO DOUBERIN DA SILVA
Data: 06/01/2026 12:50:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Thiago Douberin da Silva

UFPE/ DFF

Documento assinado digitalmente
 ISABELLA LUIZA RALPH DE OLIVEIRA
Data: 06/01/2026 12:05:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Isabella Luiza Ralph de Oliveira

UFPE/ NUPIT

Dedico este trabalho à minha noiva, Gabriella Aguiar, com quem eu quero partilhar a vida, o universo e tudo mais.

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos à pessoa que tornou possível tudo que estou conquistando neste momento, à minha noiva linda e perfeita, você é tudo que me motiva nos momentos mais difíceis, sem você eu não teria conseguido.

Agradeço imensamente a minha família, em especial minha mãe, que possibilitou todo o suporte que eu precisei para não depender do restaurante universitário todos os dias da minha vida, muito obrigado mainha.

Às minhas queridas amigas da universidade, que me ajudaram a não reprovar em tantas disciplinas (infelizmente não escapei das garras de hematologia), Renata, Karen, Igor, Mariana, Júlia Arisa e Natalia, vocês foram incríveis.

E por fim, agradeço com toda sinceridade às pessoas que possibilitaram a pesquisa, em principal minha orientadora Michelly Cristiny Pereira, que tornou realidade o meu sonho de ser pesquisador. Julia Oliveira, sem você meus experimentos jamais teriam sido organizados tão bem e meus resultados nunca teriam saído, assim como todos no laboratório, técnicos, pesquisadores, Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, que me auxiliaram com conhecimento, suporte estrutural e financeiro para que tudo fosse realizado nos conformes.

"O universo é grande. Grande mesmo.

**Não dá para acreditar o quanto ele é
desmesuradamente, inconcebivelmente,
estonteantemente grande"**

— Douglas Adams

BARBOSA, Felipe Henrique dos Santos. Avaliação do efeito antineoplásico do derivado tiazolidínico CR-35 em um modelo de neoplasia pulmonar associado ao tabagismo. 2025. 44p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

O câncer de pulmão (CP) é uma das neoplasias mais letais do mundo, sendo o tabagismo seu principal fator de risco. A doença se destaca por sua complexidade e agressividade, que dificultam o diagnóstico precoce e a eficácia dos tratamentos tradicionais. Diante dessas dificuldades, a busca por novas estratégias terapêuticas é fundamental. A exemplo disto, o desenvolvimento de novos derivados tiazolidínicos apresenta promissora capacidade antineoplásica em diversos tipos de câncer. Deste modo, este estudo investigou o efeito do derivado tiazolidínico CR-35 em um modelo animal da doença associada ao tabagismo, visando avaliar sua capacidade de modular o gene pró-apoptótico *Bax* e anti-apoptótico *Bcl-2*. Camundongos Balb/C foram separados em seis grupos: controle negativo (PBS), PBS associado ao extrato de fumaça de cigarro (EFC), uretano, uretano com EFC, uretano tratado pelo composto CR-35, e uretano tratado com CR-35 e EFC. A análise macroscópica das amostras de pulmão revelou a ausência de lesões neoplásicas nos grupos de controle e a presença de nódulos visíveis nos grupos induzidos com uretano. As análises histológicas confirmaram esses achados, demonstrando um padrão normal na arquitetura do tecido pulmonar nos grupos controle, em contraste com as lesões neoplásicas, o espessamento das paredes alveolares e o infiltrado inflamatório observados nos grupos induzidos. O grupo exposto ao EFC, em particular, apresentou um acúmulo mais pronunciado de células inflamatórias. Esses resultados confirmaram a validade do modelo animal, reproduzindo as características patológicas da doença em humanos expostos ao tabagismo, conforme descrito na literatura. A análise da expressão gênica por RT-qPCR revelou que o tratamento com o composto CR-35 modulou significativamente a expressão do gene pró-apoptótico *Bax* ($p<0,0001$). Os grupos tratados com CR-35, com ou sem a presença do extrato de fumaça, apresentaram um aumento nos níveis de mRNA de *Bax*. Esse aumento pode indicar de que o CR-35 induz a via de morte celular programada, um mecanismo de defesa crucial para eliminar células danificadas e potencialmente malignas. Esse achado se correlaciona com as análises histológicas, tendo em vista que a apoptose elevada pode levar a uma resposta inflamatória secundária, visível nos tecidos. Em contraste, a expressão do gene *Bcl-2*, um regulador anti-apoptótico, não foi significativamente modulada pelo tratamento. A falta de significância estatística sugere a necessidade de análises mais robustas com um maior número de amostras para confirmação dos mecanismos avaliados. Assim, este estudo validou um modelo de câncer de pulmão associado ao tabagismo e demonstrou que o composto CR-35 é um agente terapêutico promissor, que atua modulando a via pró-apoptótica através da expressão do gene *Bax*.

Palavras-chave: Derivados tiazolidínicos. Carcinogênese pulmonar. Modelos Pré-Clínicos.

BARBOSA, Felipe Henrique dos Santos. **Evaluating the antineoplastic effect of the thiazolidine derivative CR-35 in a smoking-associated lung neoplasia model.** 2025. 44p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Lung cancer (LC) is one of the most lethal neoplasms worldwide, with smoking being its primary risk factor. The disease is notable for its complexity and aggressiveness, which hinder early diagnosis and the efficacy of conventional treatments. Given these challenges, the search for new therapeutic strategies is paramount. A promising example is the development of new thiazolidine derivatives, which have demonstrated antineoplastic potential in various cancer types. Therefore, this study investigated the effect of the thiazolidine derivative CR-35 in an animal model of smoking-associated disease, aiming to evaluate its ability to modulate the pro-apoptotic gene Bax and the anti-apoptotic gene Bcl-2. Balb/C mice were divided into six groups: negative control (PBS), PBS associated with cigarette smoke extract (CSE), urethane, urethane with CSE, urethane treated with the compound CR-35, and urethane treated with CR-35 and CSE. Macroscopic analysis of lung samples revealed the absence of neoplastic lesions in the control groups and the presence of visible nodules in the urethane-induced groups. Histological analyses confirmed these findings, demonstrating a normal pattern in lung tissue architecture in the control groups, in contrast to the neoplastic lesions, thickening of alveolar walls, and inflammatory infiltrate observed in the induced groups. The group exposed to CSE, in particular, showed a more pronounced accumulation of inflammatory cells. These results confirmed the validity of the animal model, replicating the pathological characteristics of the disease in humans exposed to smoking, as described in the literature. Gene expression analysis by RT-qPCR revealed that treatment with the compound CR-35 significantly modulated the expression of the pro-apoptotic gene Bax ($p<0.0001$). The groups treated with CR-35, with or without the presence of the smoke extract, showed an increase in Bax mRNA levels. This increase may indicate that CR-35 induces the programmed cell death pathway, a crucial defense mechanism for eliminating damaged and potentially malignant cells. This finding correlates with the histological analyses, given that elevated apoptosis can lead to a secondary inflammatory response, visible in the tissues. In contrast, the expression of the Bcl-2 gene, an anti-apoptotic regulator, was not significantly modulated by the treatment. The lack of statistical significance suggests the need for more robust analyses with a larger sample size to confirm the evaluated mechanisms. Thus, this study validated a model of smoking-associated lung cancer and demonstrated that the compound CR-35 is a promising therapeutic agent that acts by modulating the pro-apoptotic pathway through the expression of the Bax gene.

Key words: Thiazolidine derivatives. Pulmonary carcinogenesis. Pre-clinical models.

SUMÁRIO

1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
1.1	ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOLÓGICOS DO CÂNCER DE PULMÃO	12
1.2	TABAGISMO COMO PRINCIPAL FATOR DE RISCO PARA CÂNCER DE PULMÃO	14
1.3	MECANISMOS PRÓ-TUMORAIS INDUZIDOS PELO TABACO	15
1.4	ATUAIS TERAPIAS EM CÂNCER, SEUS DESAFIOS E LIMITAÇÕES	15
1.5	POTENCIAL TERAPÊUTICO DOS DERIVADOS DE TIAZOLIDINA NO CÂNCER DE PULMÃO	16
1.6	MECANISMOS MOLECULARES DA VIA DO PPAR γ	17
1.7	VANTAGENS DO MODELO EXPERIMENTAL PRÉ-CLÍNICO EM ONCOLOGIA	21
2	OBJETIVOS	22
2.1	OBJETIVO GERAL	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3	METODOLOGIA	23
3.1	COMPOSTOS E REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS	23
3.2	DESENHO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	23
3.3	MODELO DE INDUÇÃO QUÍMICA POR URETANO	24
3.4	EXTRAÇÃO DO RNA E SÍNTESE DO cDNA	25
3.5	QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA	26
3.6	PREPARAÇÃO DO EXTRATO DE FUMAÇA	27
3.7	HISTOLOGIA	27
3.8	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	28
3.9	COMITÊ DE ÉTICA RESPONSÁVEL	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS RESULTADOS	29
4.2	ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DOS ALVOS ATRAVÉS DA RT-qPCR	31
4.2.1	Análise da Expressão Relativa do Gene <i>Bax</i>	32
4.2.2	Análise da Expressão Relativa do Gene <i>Bcl-2</i>	34

5	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS	37
	ANEXOS	46
	Certificação de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais	

Introdução

Os dados globais mais recentes sobre o câncer de pulmão (CP) demonstram que em 2020 este tipo de câncer resultou em 1,8 milhão de óbitos, consolidando-se como a neoplasia com maior mortalidade mundialmente para homens e a terceira para mulheres (INCA, 2022a). No Brasil, essa doença lidera em incidência, dos 704 mil casos de câncer por ano estimados para o triênio 2023-2025 (INCA, 2022b), o CP representa 30.560 casos novos e 28.964 mortes (INCA, 2025). Para a região Nordeste espera-se a ocorrência de 6.570 casos, sendo 3.450 (em uma taxa de incidência de 11,26/100.000) em indivíduos do sexo masculino e 3.120 (com taxa de 8,46/100.000) no feminino. Em Pernambuco, as estimativas apontam 1.320 novos casos, com 680 (14,54/100.000) em homens e 640 (10,03/100.000) em mulheres (INCA, 2023).

O CP apresenta maior incidência em nações onde os hábitos de consumo de tabaco são mais prevalentes, representando a maior causa de CP entre os fatores de risco, estando associado a 85% dos casos. Leva-se em conta também a idade de início dos hábitos de fumo, onde pessoas que iniciaram na adolescência possuem mais chances de desenvolver câncer do que pessoas que iniciaram após os 25 anos (Vieira *et al.*, 2012; WHO, 2023).

Entre os principais fatores de risco destacam-se: patologias pulmonares preexistentes, consumo de derivados do tabaco, predisposição genética e contato prolongado com substâncias cancerígenas no ambiente de trabalho ou no meio ambiente (Bray *et al.*, 2024). No Brasil, o tratamento segue as especificações do Ministério da Saúde (MS), sendo realizado um fluxo de admissão que envolve as áreas de oncologia clínica, radioterapia, cirurgia torácica, pneumologia e radiologia intervencionista. O tratamento de primeira linha varia conforme o tipo e estágio da doença, que é classificada entre câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC) e câncer de pulmão de pequenas células (CPCP), sendo a quimioterapia, radioterapia e cirurgia as abordagens mais comuns em casos localizados (BRASIL, 2023). Para o CPNPC, a terapia-alvo e a imunoterapia têm ganhado destaque (Evangelista, 2022), especialmente em pacientes com biomarcadores específicos, como mutações no *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* ou expressão de Programmed Cell Death

Ligand 1 (*PD-L1*). No entanto, o acesso a tratamentos inovadores ainda é desigual ao comparar entre o Sistema Único de Saúde (SUS) e o sistema de saúde privado. Os agentes quimioterápicos clássicos permanecem como opção majoritária em muitos casos, principalmente devido às limitações de custo e infraestrutura. Apesar dos avanços, desafios como diagnóstico tardio e heterogeneidade no acesso a terapias personalizadas impactam os resultados clínicos (BRASIL, 2014).

Em resposta às lacunas deixadas pelos tratamentos atuais, terapias inovadoras vêm ganhando destaque. Nesse cenário, os derivados tiazolidínicos se mostram promissores, com estudos demonstrando sua capacidade de atuar de forma citotóxica e inibitória contra o crescimento de diversas linhagens de câncer de pulmão, como A549, H1299 e H322 (Fu et al., 2022a; Bangade; Mali; Meshram, 2021). Além de sua eficácia *in vitro*, eles também demonstram funcionalidade significativa em modelos *in vivo*, onde suprimiram o crescimento tumoral com atividade anticâncer sobre o carcinoma de grandes células e o adenocarcinoma pulmonar (Singh et al., 2023; Dwyer-Nield et al., 2022). Neste contexto, o presente trabalho buscou avaliar o efeito do derivado tiazolidínico CR-35 em um modelo *in vivo* associado ao tabagismo.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 CLASSIFICAÇÃO, EPIDEMIOLOGIA E PERFIS MOLECULARES DO CÂNCER DE PULMÃO

A classificação oficial do câncer de pulmão, estabelecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), divide a doença em dois grandes grupos histológicos: o câncer de pulmão de células pequenas e o CPNPC. Dentro do grupo do CPCP, destacam-se o tipo clássico e o combinado, onde neste último há presença de outros tipos de CP. Sua classificação mais relevante é baseada na extensão da doença, sendo dividida em estágio limitado ou estágio extenso. O CPNPC é o grupo mais comum da doença e é onde se encontram as principais subdivisões. Seus três subtipos mais frequentes e bem definidos incluem o adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas e o carcinoma de grandes células, um tipo menos comum e mais

agressivo, geralmente diagnosticado por exclusão dos outros subtipos (Cook; Miller; Bunn, 1993; Fraire et al., 1992). Além desses, a classificação da OMS também reconhece outros tipos menos frequentes, como o carcinoma adenoescamoso, que associa características de adenocarcinoma e carcinoma de células escamosas, e o carcinoma sarcomatóide, que inclui subtipos mais raros e agressivos como o carcinoma pleomórfico e o de células gigantes (Tsao, 2021).

O CPCP corresponde a cerca de 10-30% dos casos de CP, mas destaca-se pela sua agressividade e alto potencial metastático, resultando na maior taxa de mortalidade entre os subtipos (Howlader et al., 2020; Irep et al., 2024; Rocha et al., 2023; Wang; Chiang, 2024). Caracterizado por afetar células em estágios imaturos de desenvolvimento de pequeno tamanho e crescimento acelerado, o CPCP está fortemente associado ao tabagismo estando presente em aproximadamente 98% dos casos confirmados (Kenfield et al., 2008; Rocha et al., 2023), com mutações frequentes em genes como TP53 e RB1, que conferem rápida progressão e resistência terapêutica (Fan et al., 2021; Hao et al., 2023). A maioria dos pacientes é diagnosticada em estágio extenso (metastático), limitando as opções de tratamento – que ainda se baseiam principalmente em quimioterapia e radioterapia, com respostas iniciais frequentes, mas recidiva precoce (Leung et al., 2023; Rocha et al., 2023).

Em contraponto, o CPNPC representa cerca de 70-90% dos casos de câncer de pulmão. Embora menos agressivo, o CPNPC ainda apresenta alta mortalidade quando comparado com outros tipos de câncer, principalmente devido ao diagnóstico tardio da doença. De acordo com a literatura cerca de 60-85% dos casos são detectados em estágios avançados (Abrao et al., 2017; Campuzano et al., 2024). Este subtipo está associado a algumas mutações genéticas específicas, como EGFR, o gene do linfoma anaplásico de células grandes (ALK), o oncogene 1 do receptor tirosina quinase do ROS (ROS1), o gene do sarcoma viral de rato Kirsten (KRAS) e o gene do fator de transcrição v-raf murino sarcoma viral oncogene homólogo B1 (BRAF), que permitem terapias-alvo direcionadas, melhorando a sobrevida em subgrupos selecionados.

No entanto, a heterogeneidade tumoral e o desenvolvimento de resistência aos tratamentos permanecem como desafios críticos, particularmente em pacientes

fumantes, cuja elevada prevalência de mutações em KRAS agrava ainda mais esse cenário (Chevallier *et al.*, 2021; Rosental *et al.*, 2025). Para enfrentar justamente esses obstáculos, o foco da oncologia tem se voltado para estratégias que mobilizam o sistema imunológico do próprio paciente contra o tumor. Foi essa premissa que abriu caminho para a revolucionária classe de medicamentos anti-PD-1/PD-L1, levando cada vez mais a novos tratamentos. Porém a resposta entre pacientes ainda varia significativamente, a exemplo da resposta mais acentuada em tumores com maior carga mutacional (Nan *et al.*, 2021).

A associação entre o tabagismo e o desenvolvimento de câncer de pulmão já é recorrente na literatura. Dentre os tipos histológicos associados ao tabagismo podemos citar o carcinoma de células escamosas do pulmão e o adenocarcinoma (Wang *et al.*, 2023a). Estes dados corroboram com outro artigo publicado, uma meta-análise, retratando redução de aproximadamente 30% do risco de mortalidade para pacientes que interrompem o tabagismo no período de diagnóstico, apresentando benefícios para todos os subtipos histológicos. Dentre os dados apresentados, é especialmente relevante a constatação de que mesmo no CPCP a cessação do tabagismo mostrou efeito protetor comparável ao observado no CPNPC, realçando a importância do tratamento associado à orientações corretas dos hábitos do paciente em sua sobrevida (Caini *et al.*, 2022).

1.2 TABAGISMO: MECANISMOS CARCINOGENICOS, IMPACTO CLÍNICO E REPERCUSSÕES EPIDEMIOLÓGICAS

Epidemiologicamente, fumantes têm um maior risco de desenvolver o CP em comparação a não fumantes, com risco proporcional à duração e intensidade do hábito. O tabagismo permanece como o principal fator de risco evitável para o CP, responsável por cerca de 90% dos casos diagnosticados, (Santos *et al.*, 2024; Souza *et al.*, 2014). A fumaça do cigarro contém mais de 70 carcinógenos conhecidos, como benzo[a]pireno, nitrosaminas e arsênico, que induzem danos ao DNA por meio de estresse oxidativo e mutações em genes-chave (*TP53*, *KRAS* e *EGFR*) (Balali-Mood *et al.*, 2021; Cui *et al.*, 2020; Morillas; Gallego-Cartagena; Upasen, 2024; Zhang *et al.*, 2018). Além disso, o hábito do tabagismo está associado a tumores mais agressivos,

como os casos gerais de CPCP e os casos de CPNPC associados a mutações em KRAS, menor resposta a terapias-alvo e pior prognóstico (Rudin *et al.*, 2021; Tseng *et al.*, 2022).

Porém, a cessação do uso de tabaco, mesmo após o diagnóstico, continua sendo a prevenção mais eficaz, podendo melhorar a sobrevida média em até 30% (Wang *et al.*, 2023b). Além disso, o impacto do tabagismo independe do indivíduo, tratando-se de um grave problema de saúde coletiva. Estudos epidemiológicos revelam que a exposição passiva à fumaça durante a infância é responsável por aumento dos casos de câncer de pulmão em adultos não fumantes, além de 20 a 30% de risco aumentado em pessoas que convivem com fumantes, demonstrando seu relevante papel na carcinogênese ambiental (Mochizuki *et al.*, 2024; Vineis *et al.*, 2005).

1.3 MECANISMOS PRÓ-TUMORAIS INDUZIDOS PELO TABACO

A fumaça do tabaco estabelece um microambiente tumoral pró-cancerígeno ao desencadear inflamação crônica e imunossupressão. Esse processo ocorre através da ativação da via Fator Nuclear kappa-light-chain-enhancer de células B ativadas (*NF-κB*) e da liberação de citocinas como Interleucina 6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), combinado com o recrutamento de células regulatórias T, que limitam a resposta do sistema imune contra o tumor, e macrófagos do tipo M2, que promovem angiogênese, transição epitelial-mesenquimal (EMT) e imunossupressão (Al-tameemi *et al.*, 2022; Bianchi *et al.*, 2024; Ding *et al.*, 2024; Guo *et al.*, 2024; Tan *et al.*, 2021).

Paralelamente, a fumaça modula vias de sinalização cruciais, incluindo a via *NRF2*. Embora essa via exerça função citoprotetora em células saudáveis, os tumores se apropriam desse mecanismo para desenvolver resistência a estresse oxidativo e aos agentes quimioterápicos. Essas alterações multifatoriais não somente aceleram a progressão da doença, mas também reduzem a eficácia das terapias (Cano *et al.*, 2010; Iizuka *et al.*, 2005; Sánchez-Ortega; Carrera; Garrido, 2021). Tal cenário evidencia a importância deixada pelas lacunas de entendimento sobre o microambiente tumoral e o impacto nas terapias atuais.

1.4 ATUAIS TERAPIAS EM CÂNCER, SEUS DESAFIOS E LIMITAÇÕES

De acordo com o Protocolo Unificado Para o Tratamento das Neoplasias Malignas Não Hematológicas, que preconiza os tratamentos para o SUS, o uso de quimioterapia e a radioterapia seguem como os tratamentos de primeira linha para o CP. Porém estes tratamentos apresentam limitações, principalmente devido à alta toxicidade sistêmica causada pela Cisplatina, um dos medicamentos de primeira linha, em conjunto com a carboplatina, que grande parte dos casos resulta em quimioresistência ao tratamento prolongado (BRASIL, 2020; Ranasinghe; Mathai; Zulli, 2022).

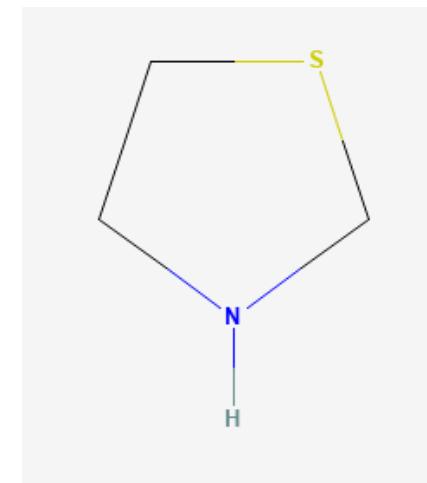
Apesar dos desafios, a combinação de radioterapia com um derivado de platina continua sendo a principal base terapêutica para muitos pacientes. Essa abordagem é particularmente relevante em estágios avançados da doença, quando os pacientes estão muito debilitados e não podem ser submetidos a cirurgias ou outros tratamentos invasivos (BRASIL, 2023). Embora ofereçam respostas iniciais, sua elevada toxicidade sistêmica (como mielossupressão e neuropatia) e o desenvolvimento de resistência tumoral limitam sua eficácia a longo prazo (Romani, 2022; Yazbeck *et al.*, 2022).

As terapias-alvo, como inibidores de *EGFR* (osimertinibe) e *ALK* (crizotinibe), surgem como uma tentativa de contornar os problemas existentes. Atuando em tumores com mutações específicas, proporcionando respostas mais duradouras e menos efeitos colaterais. No entanto, a resistência adquirida, via mutações secundárias como *EGFR T790M* ou ativação de vias alternativas como *MET*, permaneceu como um obstáculo crítico (Mithoowani; Febbraro, 2022). Ademais, uma parcela dos pacientes apresenta baixa ou nenhuma resposta, devido a fatores como microambiente tumoral imunossupressor, baixa expressão de *PD-L1* ou perfil genômico desfavorável, como defeitos em *STK11* (Pons-Tostivint *et al.*, 2021). Essas limitações destacam a necessidade de novas estratégias terapêuticas, como associações com outros imunomoduladores ou o desenvolvimento de compostos inovadores, que possam superar esses mecanismos de resistência e melhorar os desfechos clínicos.

1.5 POTENCIAL TERAPÊUTICO DOS DERIVADOS DE TIAZOLIDINA NO CÂNCER DE PULMÃO

Derivados de tiazolidina são compostos orgânicos que possuem, em sua estrutura principal, um anel de cinco membros contendo um átomo de enxofre (S) e um de nitrogênio (N), como ilustrado na Figura 1. Devido a sua estrutura a qual se baseia em um núcleo heterocíclico que oferece pontos de ligação hidrofílicos e hidrofóbicos, facilitando o ajuste da molécula para diferentes atividades biológicas, eles têm se mostrado promissores na oncologia, ao exibir múltiplos mecanismos de ação antitumoral (Khan *et al.*, 2023; Zengin Kurt *et al.*, 2025a).

Figura 1 - Estrutura química da tiazolidina



Fonte: PUBCHEM. Thiazolidines.National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiazolidines>. Acesso em: 16 ago. 2025.

Em diversos tipos de câncer, incluindo o de pulmão, os derivados tiazolidínicos atuam como agonistas de *PPAR γ* e demonstraram capacidade de inibir a proliferação tumoral por meio da supressão de vias pró-inflamatórias como o *NF- κB* e da indução de estresse oxidativo seletivo em células cancerígenas. Estudos recentes destacam seu potencial para sensibilizar tumores resistentes a terapias convencionais, especialmente em neoplasias associadas ao tabagismo, onde a desregulação metabólica e inflamatória é pronunciada. A combinação única de propriedades químicas e atividade farmacológica posiciona esses compostos como promissores

para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas no CP (Bar *et al.*, 2022a; Khan *et al.*, 2023; Zengin Kurt *et al.*, 2025b).

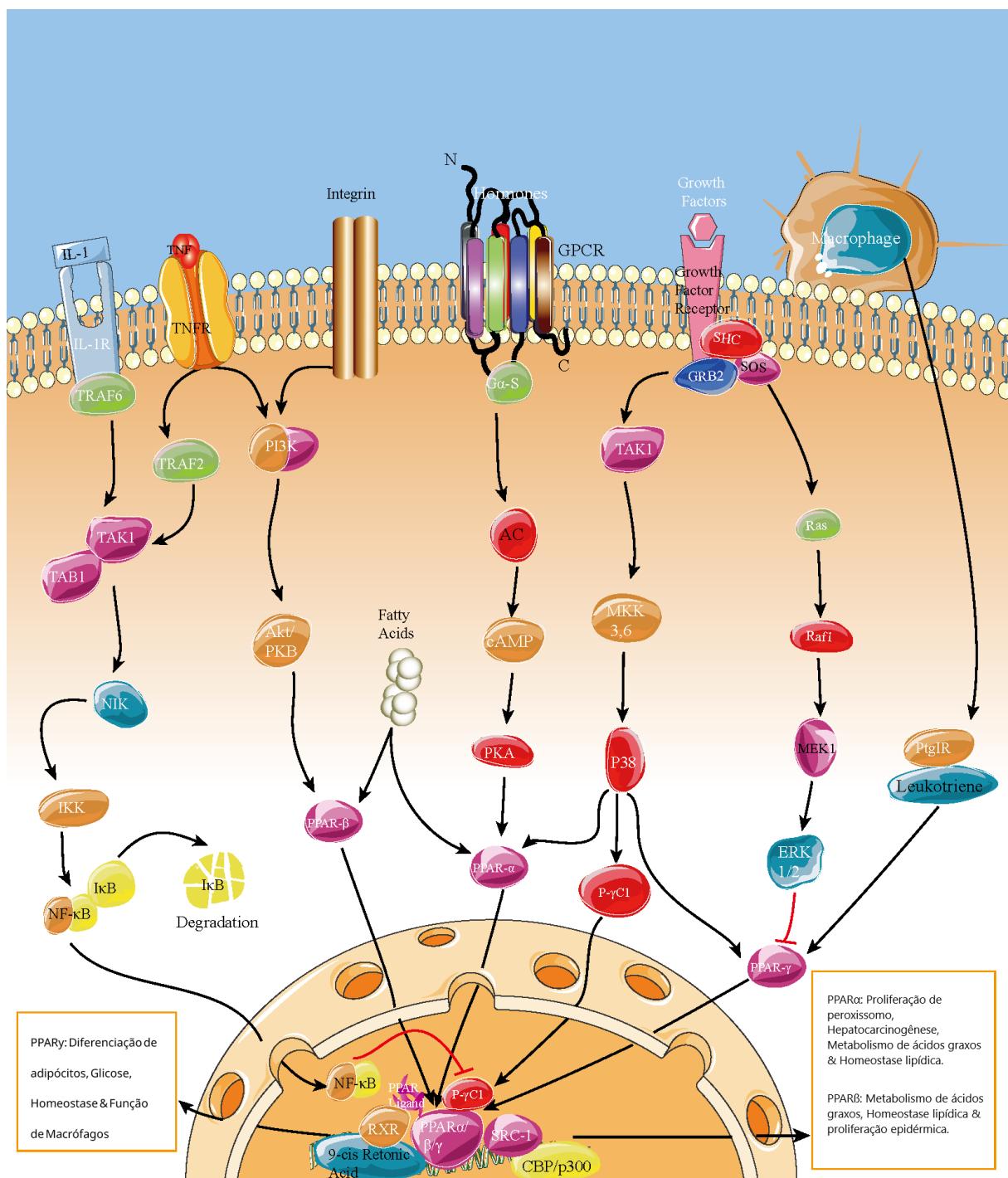
Nesta circunstância, os derivados da tiazolididina, ativam sua via de sinalização nuclear que regula a expressão gênica envolvida no metabolismo lipídico, diferenciação celular e resposta inflamatória. No contexto do CP, a ativação do PPAR γ inibe o crescimento do tumor por meio do estímulo da apoptose ao regular o balanço entre as proteínas pró-apoptóticas (BAX e BAK) e as anti-apoptóticas (BCL-2 e BCL-XL) (Gupta *et al.*, 2024).

Em conformidade, ela também potencializa a via pró-inflamatória NF- κ B e diminui o estresse oxidativo ao modular enzimas como a Superóxido Dismutase (SOD) e a catalase. Para completar, essa via ainda demonstra efeitos antiangiogênicos, inibindo a expressão de Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e, assim, bloqueando a angiogênese tumoral (Bar *et al.*, 2022b; Kaleniuk *et al.*, 2024; Szychowski *et al.*, 2021).

1.6 MECANISMOS MOLECULARES DA VIA DO PPAR γ

A via de sinalização do receptor PPAR γ envolve uma cascata de reações bem caracterizada na literatura. Esses agonistas se ligam ao domínio de ligação do ligante (LBD) de PPAR γ no citoplasma, induzem uma mudança conformacional que expõe o sinal de localização nuclear (NLS), permitindo sua translocação para o núcleo através do complexo de importina α/β . No compartimento nuclear, PPAR γ forma um heterodímero obrigatório com o receptor RXR α , que se liga a elementos específicos de resposta ao proliferador de peroxissomo (PPREs) nas regiões promotoras de genes-alvo como demonstrado na Figura 2 (Dawson; Xia, 2012; Umemoto; Fujiki, 2012).

Figura 2 – Via de sinalização do PPAR



Fonte: Traduzida pelo autor. CREATIVE DIAGNOSTICS. PPAR Signaling Pathway. [S. I.], [s. d.].

Disponível em: <https://www.creative-diagnostics.com/ppar-signaling-pathway.htm>. Acesso em: 15 ago. 2025

A ativação desta via desencadeia uma cascata de eventos moleculares interconectados. Primeiramente, ocorre o recrutamento de coativadores transpcionais como o Coativador 1 α do Receptor de Aryl-Hydrocarbon Receptor (PGC-1 α) e Coativador do Receptor Nuclear 1 (SRC-1), que possuem atividade histona acetiltransferase, remodelando a cromatina e facilitando a transcrição gênica (Chen *et al.*, 2024; Katsouri *et al.*, 2011).

No âmbito da apoptose, a ativação de PPAR γ promove um balanço pró-apoptótico através da regulação de proteínas da família Bcl-2. Ocorre aumento da expressão de BAX e PUMA, que permeabilizam a membrana mitocondrial externa, enquanto há redução dos níveis de Bcl-2 (Kim *et al.*, 2006). Esta alteração leva à liberação de citocromo c para o citosol, onde se associa a Apaf-1 e pró-caspase-9 para formar o apoptossomo, iniciando a cascata de ativação das caspases efetoras (Silva, 2021). Paralelamente, a via modula o estresse oxidativo através da regulação de enzimas antioxidantes como SOD2 e catalase nas mitocôndrias, enquanto reprime a expressão de NOX4 na membrana plasmática (Bijli *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2012; Naumenko; Ahlemeyer; Baumgart-Vogt, 2017; Nie *et al.*, 2022).

A regulação pós-traducional de PPAR γ adiciona outra camada de complexidade ao seu mecanismo de ação. A fosforilação em Ser273 (um dos aminoácidos que compõe esta proteína) por ERK ou CDK5 modula sua capacidade de interagir com proteínas que modulam a transcrição. Essa nova forma faz com que o PPAR γ bloqueie a ação de proteínas que normalmente inibem a expressão gênica ao mesmo tempo que promove o recrutamento de coativadores que estimulam a expressão de outros genes. Em contrapartida, a SUMOilação por SUMO-1 influencia diretamente a estabilidade do PPAR γ . A ligação da SUMO-1 compete com a ubiquitinação, que é o principal sinal para a degradação da proteína. Ao ocupar o sítio de ligação, a SUMOilação protege o receptor da degradação, aumentando sua meia-vida na célula (Chen *et al.*, 2025; Ji *et al.*, 2022). Estas modificações são particularmente importantes no câncer de pulmão, onde carcinógenos do tabaco como 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK) suprimem a expressão basal de PPAR γ . A reativação farmacológica desta via pelos derivados de tiazolidrina pode

contornar mutações frequentes em KRAS e TP53, o que oferece uma estratégia terapêutica promissora (Carvalho; Gonçalves-de-Albuquerque; Silva, 2021).

1.7 VANTAGENS DE MODELOS EXPERIMENTAIS PRÉ-CLÍNICOS EM ONCOLOGIA

O desenvolvimento e avaliação de novos fármacos requer um protocolo rigoroso. Se faz necessária a síntese de compostos a serem estudados, seguida por testes *in vitro*, avaliando características como citotoxicidade, seletividade e atividade inibitória em diversas linhagens. Caso os resultados se mostrem positivos, dá-se continuidade para as avaliações *in vivo*. É nesse ponto que a utilização do modelo de indução química por uretano se encaixa, sendo amplamente utilizado em estudos que avaliam terapias para câncer de pulmão. O uretano induz lesões pulmonares que mimetizam o adenocarcinoma humano, com mutações em *KRAS* e ativação de vias pró-inflamatórias, tornando-o intrinsecamente válido para investigar os efeitos da fumaça do cigarro (Keohavong; Peter Di, 2021; Li; Counter, 2021). Comparado a modelos transgênicos (como os que utilizam camundongos com a mutação *KRAS^{G12D}*), o uretano oferece vantagens como baixo custo e desenvolvimento tumoral espontâneo, embora não reproduza em sua totalidade a heterogeneidade genética observada nos pacientes com CP. Quando combinado com exposição a extratos de fumaça, esse modelo permite avaliar sinergias entre carcinógenos químicos e componentes da fumaça, como a nitrosamina cetona derivada da nicotina (NNK), um dos carcinógenos mais potentes encontrados no cigarro convencional, mimetizando a progressão tumoral em fumantes (Zhang *et al.*, 2021a) .

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a potencial modulação do derivado tiazolidínico CR-35 na expressão de genes envolvidos na apoptose em um modelo experimental de câncer de pulmão associado ao tabagismo.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1.1 Caracterizar histologicamente as lesões pulmonares em camundongos BALB/c expostos ao modelo combinado de carcinogênese química com uretano e extrato de fumaça;

2.1.2 Avaliar o efeito do CR-35 na expressão dos genes *Bax* e *Bcl-2* no modelo de câncer de pulmão associado ou não ao extrato de fumaça.

3 METODOLOGIA

3.1 COMITÊ DE ÉTICA RESPONSÁVEL

O presente projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, no processo Processo nº 0050/2024. A referente autorização encontra-se anexa ao final deste documento.

3.2 COMPOSTOS E REAGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS

Para a indução do modelo, foi utilizado uretano (Sigma-Aldrich, grau de pureza ≥98%) na forma de pó, que foi diluído em solução salina estéril (0,9% NaCl) na concentração de 1 g/mL, conforme supracitado. Além disso, foi utilizado um derivado de tiazolidrina sintetizado no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF-UFPE), cedido pelo professor Ivan da Rocha Pitta. O derivado CR-35 foi diluído em veículo apropriado (DMSO a 1% em solução salina) para os ensaios terapêuticos. Todos os reagentes e compostos foram preparados sob condições estéreis e armazenados conforme as especificações dos fabricantes.

3.3 DESENHO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados camundongos fêmeas de linhagem BALB/c, apresentando de 6 a 8 semanas de idade. Os animais foram obtidos do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE, com livre acesso à dieta e à água, foram mantidos em gaiolas ventiladas com um ciclo dia – noite de 12 horas em caixas forradas com serragem. Os animais foram separados em 6 grupos:

a) Grupo controle negativo: composto por 2 animais que receberam 3 aplicações intraperitoneais (i.p.) de solução salina (PBS). As aplicações ocorreram na primeira semana do experimento, sendo respeitado o intervalo de 1 dia entre cada aplicação. A partir da 20^a semana foi administrada a aplicação do controle de tratamento por meio de solução salina com a mesma concentração de DMSO (2%).

b) Grupo controle do Extrado de Fumaça do Cigarro (EFC): composto por 3 animais que receberam 3 aplicações i.p. de solução salina (PBS). As aplicações

foram realizadas na primeira semana do experimento, sendo respeitado o intervalo de 1 dia entre cada aplicação. Também receberam aplicações i.p. da solução do extrato de fumaça do cigarro nos dias 1, 12 e 23 do experimento.

c) Grupo Controle Positivo da Indução: composto por 4 camundongos que receberam 3 aplicações i.p. de uretano, em dosagem de 1mg/g. As aplicações foram realizadas na primeira semana do experimento, sendo respeitado o intervalo de 1 dia entre cada aplicação.

d) Grupo indução + EFC: composto por 6 animais que receberam 3 aplicações i.p. de uretano, em dosagem de 1mg/g. As aplicações foram realizadas na primeira semana do experimento, sendo respeitado o intervalo de 1 dia entre cada aplicação. Também receberam aplicações i.p. da solução do EFC nos dias 1, 12 e 23 do experimento.

e) Grupo indução + CR-35: composto por 5 animais que receberam 3 aplicações i.p. de uretano, em dosagem de 1mg/g. As aplicações foram realizadas na primeira semana do experimento, sendo respeitado o intervalo de 1 dia entre cada aplicação. A partir da 20^a semana foi administrada a aplicação do tratamento por meio de i.p. do composto CR-35 em concentração de 30mg/kg de peso corporal diluído em carboximetilcelulose (CMC) a 0,2%. A aplicação foi semanal (1 vez por semana), com duração de 4 semanas.

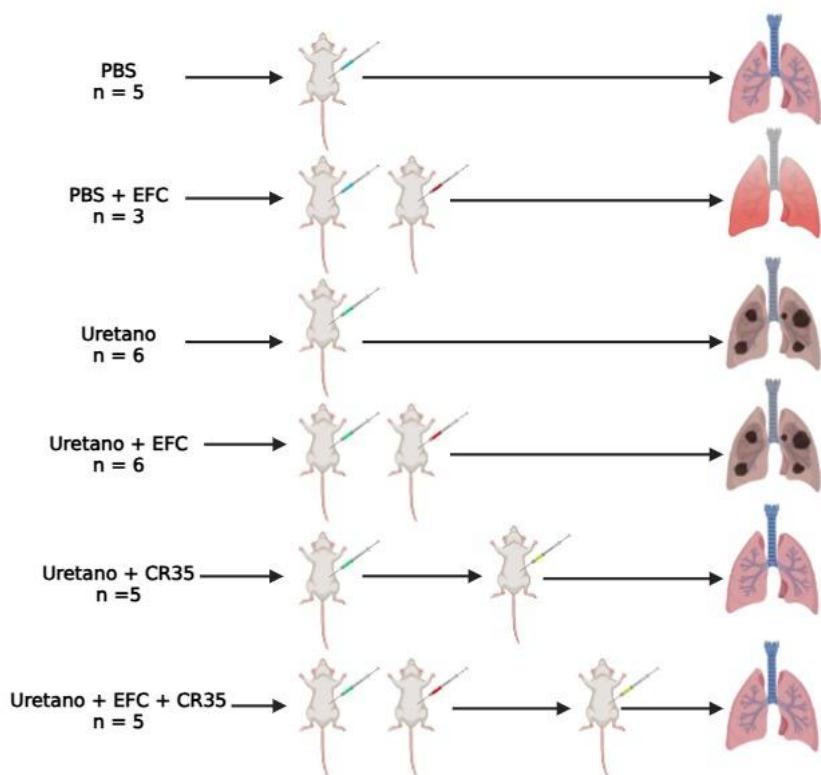
f) Grupo indução + CR-35 + EFC: composto por 5 animais que receberam 3 aplicações i.p. de uretano, em dosagem de 1mg/g. As aplicações foram realizadas na primeira semana do experimento, sendo respeitado o intervalo de 1 dia entre cada aplicação. A partir da 20^a semana foi realizada a aplicação do tratamento por meio de i.p. do composto CR-35 em concentração de 30mg/kg de peso corporal diluído em carboximetilcelulose (CMC) a 0,2%. A aplicação foi semanal e ocorreu por 4 semanas. Também receberam aplicações i.p. da solução do EFC nos dias 1, 12 e 23 do experimento.

Após as 24 semanas de experimento foi realizada a eutanásia dos camundongos por aplicação de dose letal de anestésico. Foram coletados pulmões bilaterais por meio de ressecção cirúrgica.

3.4 MODELO DE INDUÇÃO QUÍMICA POR URETANO

A indução ocorreu pela aplicação de três injeções i.p. em dose de uretano a 1 mg/g de peso do camundongo em uma semana, com intervalo de 1 dia entre cada aplicação de acordo com a literatura, uma metodologia de indução que já está estabelecida em nosso grupo de pesquisa (Sozio et al., 2021). A duração da indução é de 20 semanas, contando a partir da primeira aplicação, como demonstrado na Figura 3.

Figura 3 - Ilustração esquemática do modelo experimental aplicado



Legenda: Aplicação de PBS representada nas seringas azuis. Aplicação do EFC representada nas seringas vermelhas. Aplicação do Uretano representada nas seringas verdes. Tratamento por CR-35 representado pelas seringas amarelas.

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

3.5 EXTRAÇÃO DO RNA E SÍNTESE DO cDNA

Após a eutanásia dos animais, as amostras de tecido pulmonar foram imediatamente imersas em RNA Later (Thermo Fisher Scientific) e mantidas sob

congelamento a -80°C para posterior extração de RNA. Para a fragmentação do tecido as amostras foram transferidas para tubos Eppendorf com Trizol Reagent® (Thermo Fisher Scientific), utilizando o sistema TissueLyser® (Qiagen), que emprega esferas de cerâmica dentro dos tubos. O processo consiste em agitação mecânica em alta velocidade, garantindo uma homogeneização eficiente do material biológico antes da etapa de extração. Após a fragmentação tecidual, as amostras ficaram 5 minutos em temperatura ambiente para dissociação do complexo proteico nuclear. Em seguida, após descongelamento completo, foram adicionados 150 µL de clorofórmio, homogeneizados vigorosamente e incubados por 3 minutos em temperatura ambiente. As amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm, a 4°C por 15 minutos e o sobrenadante com o RNA foi transferido para um novo tubo Eppendorf. Adicionou-se 375 µL de isopropanol (100%) e a mistura foi incubada *overnight* a -20°C.

Após o período determinado, as amostras foram mantidas por 10 minutos em temperatura ambiente para descongelamento completo e subsequentemente centrifugadas a 12.000 rpm e 4°C durante 10 minutos, resultando na formação de um pellet contendo o material nuclear concentrado. O sobrenadante contendo isopropanol foi cuidadosamente desprezado, seguido pela adição de 750 µL de etanol 70% para lavagem do pellet. Uma nova etapa de centrifugação foi realizada a 7.500 rpm e 4°C por 5 minutos. O sobrenadante com etanol foi então descartado, e as amostras permaneceram por 3 horas em cabine de fluxo laminar para completa evaporação do solvente residual. Para finalizar, o material foi ressuspensido em 30 µL de água livre de RNase e incubado em banho seco a 55°C por 15 minutos. A quantificação do RNA foi realizada no equipamento Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific), e as amostras foram adequadamente armazenadas a -80°C para preservação.

A síntese do DNA complementar (cDNA) foi possível utilizando o kit de transcrição reversa cDNA Hight Capacity (AppliedBiosystems) e 500 ng das amostras de acordo com o procedimento de execução do fabricante.

3.6 QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

Para a quantificação da expressão gênica foi utilizada a metodologia da reação em cadeia de polimerase quantitativa em tempo real (qPCR), empregando o método

TaqMan® (AppliedBiosystems). As condições da ciclagem foram configuradas sequencialmente em duas etapas. A primeira etapa, também denominada de “hold stage”, é subdividida em dois passos: o step 1 mantém a amostra 2 minutos à temperatura de 50°C, e o step 2 a expõe por 10 minutos a 95°C. A segunda etapa, chamada de “PCR Stage”, também é dividida em dois passos: o primeiro submete a amostra a 40 ciclos de 15 segundos à 95°C e o segundo expõe a amostra à 60°C por 20 segundos.

O primer correspondente ao gene apoptótico BAX (Forward: CCAAGAACGCTGAGCGAGTGTCT e Reverse: AGCTCCATATTGCTGTCCAGTTC); anti-apotótico Bcl-2 (Forward: CCTGTGGATGACTGAGTACCTG e Reverse: AGCCAGGAGAAATCAAACAGAGG) e endógeno B-Actina (Forward: GGCTGTATTCCCCCATCG, Reverse: CCAGTTGGTAACAATGCCATGT), fornecidos pela Thermo Fisher, foram adicionados às amostras para a visualização das reações PCR e por fim, a expressão gênica relativa foi calculada por $2^{-\Delta\Delta CT}$.

3.7 PREPARAÇÃO DO EXTRATO DE FUMAÇA

O protocolo para obtenção do extrato de fumaça de cigarro (CSE) foi adaptado a partir de metodologia previamente estabelecida na literatura (Zhang *et al.*, 2021b). Inicialmente, a fumaça foi coletada utilizando de uma seringa de vidro estéril acoplada a um tubo de silicone maleável que transferiu a fumaça para um frasco béquer contendo 10 mL de meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) com o auxílio de uma bomba vácuo para sucção. O meio foi então submetido à filtração estéril utilizando membranas Millipore® e posteriormente teve seu pH ajustado para 7,35-7,45 com solução de NaOH 1M.

A solução resultante foi definida como CSE na concentração padrão de 100%. É importante ressaltar que todas as soluções de CSE foram utilizadas imediatamente após o preparo, com um tempo máximo de 30 minutos entre a produção e a aplicação experimental, garantindo assim a preservação das propriedades físico-químicas do extrato.

3.8 HISTOLOGIA

Após a eutanásia dos animais, os lóbulos pulmonares foram cuidadosamente dissecados e fixados em solução de formalina tamponada a 10% em tampão fosfato (PBS 0,1M, pH 7,4) por até 72 horas a temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram desidratadas em série etílica crescente (70%, 80%, 90% e 100%), clarificadas em xanol e incluídas em parafina histológica (56–58°C) utilizando moldes metálicos padrão. Os blocos foram seccionados em micrótomo (espessura de 3–5 µm) e as secções montadas em lâminas para posterior coloração por hematoxilina e eosina (HE). A fixação adequada e o processamento padronizado garantiram a preservação da arquitetura tecidual e a qualidade das análises histopatológicas subsequentes.

3.9 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

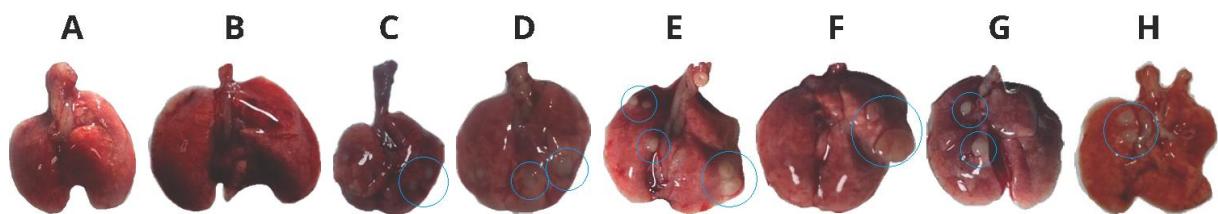
A análise estatística dos dados, obtidos a partir dos seis grupos experimentais (PBS, n=5; PBS+EFC, n=3; Uretano, n=6; Uretano+EFC, n=6; Uretano+CR-35, n=5; Uretano+CR-35+EFC, n=5), foi realizada utilizando o software GraphPad Prism (versão 8.0) com o objetivo de comparar as médias entre os diferentes grupos experimentais. Inicialmente, a normalidade dos dados foi verificada em cada grupo por meio do teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade das variâncias foi avaliada com o teste de Brown-Forsythe. Para dados que se mostraram paramétricos (com distribuição normal e variâncias iguais), a análise de variância *one-way* ANOVA ordinária foi empregada. Neste caso, a detecção de uma diferença significativa ($p < 0,05$) levou à aplicação de testes *post-hoc* para identificar os grupos diferentes. Para comparações múltiplas entre os grupos foi empregado o teste de Turkey. No caso de dados não-paramétricos (onde pelo menos um grupo não seguia a distribuição normal), a análise foi conduzida pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *post-hoc* de Dunn para comparações múltiplas. O nível de significância adotado em todas as análises foi * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$, **** $p < 0,0001$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS RESULTADOS

No momento da eutanásia são avaliadas as características macroscópicas das amostras de pulmão. Como demonstrado na Figura 4, foi observada ausência de lesões neoplásicas nos grupos PBS (Fig. 4A) e PBS+EFC (Fig. 4B), devido a estes grupos não contarem com a aplicação do indutor químico, o uretano. O grupo induzido unicamente com uretano (Fig. 4C, D) apresenta o surgimento de lesões neoplásicas de tamanho menor que o grupo induzido com uretano associado ao EFC (Fig. 4E, F). Não houve uma característica macroscópica distintiva entre os grupos Uretano tratado com o composto CR-35 (Fig. 4G) e o grupo induzido por uretano associado ao EFC tratado com o composto CR-35 (Fig. 4H), ambos os grupos apresentaram tumores de tamanho semelhante macroscopicamente, de coloração e textura preservadas.

Figura 4 – Análise macroscópica dos pulmões



Legenda: Presença de lesões tumorais ressaltadas por círculos azuis.

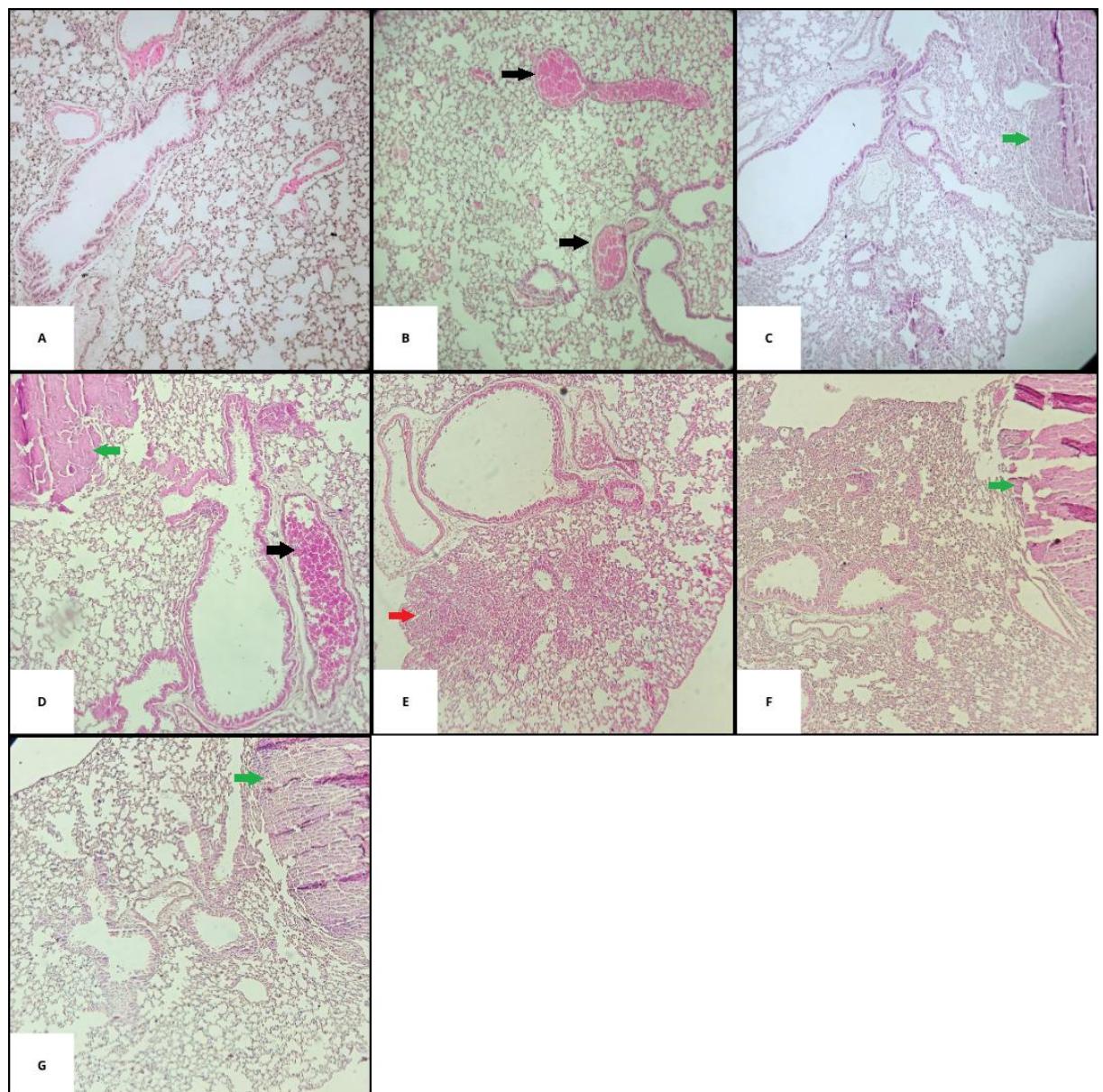
Fonte: elaborada pelo próprio autor.

A análise macroscópica é um importante achado, a presença de nódulos visíveis é característica do modelo de câncer induzido por uretano (Khalaf *et al.*, 2022; Melnikov *et al.*, 2024). Estes resultados se mostram intrinsecamente relacionados com as demais análises, representando um resultado preliminar no momento da eutanásia. Associa-se então esta análise com a análise dos cortes histológicos, como demonstrado na Figura 5^a. A análise de cortes pulmonares do grupo controle apresentou padrão normal de brônquios, estrutura alveolar e vascularização, sem quaisquer sinais de células tumorais. Em contraste, os grupos experimentais exibiram alterações histológicas distintas. Na Figura 5B observa-se que o grupo PBS + EFC demonstrou um aumento de células vermelhas no tecido, sugerindo infiltrado

inflamatório. Enquanto os grupos induzidos com uretano (Figura 5C - G) apresentaram lesões neoplásicas nas bordas teciduais, acompanhadas de espessamento das paredes alveolares nas regiões perivasculares e adjacentes às lesões. No grupo que combina uretano com EFC (Figuras 5D, E), observou-se não apenas o surgimento de lesões neoplásicas na borda tecidual, mas também um acúmulo mais acentuado de células vermelhas no tecido e áreas expansivas de inflamação coalescente. Os grupos tratados com CR-35 (Figura 5F), tanto isoladamente quanto em combinação com EFC (Figura 5G), apresentaram padrões semelhantes de lesões neoplásicas e espessamento alveolar, porém com características celulares distintas em sua organização. As análises histológicas demonstram os efeitos diferenciais de cada tratamento na arquitetura do tecido pulmonar, sendo os achados representativos para cada grupo experimental estudado apresentado nas imagens.

Tais achados condizem diretamente com o encontrado na literatura, tendo como exemplo o estudo de Wawryk-Gawda *et al.* (Wawryk-Gawda et al., 2020), que em seu estudo analisa as alterações histomorfológicas dos pulmões de roedores expostos à fumaça do cigarro convencional bem como do cigarro eletrônico, onde os mesmos apresentam espessamento da parede alveolar, focos de hemorragia, eritrócitos intrabronquiolos e aumento da produção de muco, correspondendo com os achados dos grupos expostos ao extrato da fumaça. Outros autores da literatura também caracterizam os impactos da exposição a fumaça do cigarro por meio do modelo de exposição ao extrato de fumaça, indicando achados como aumento da espessura das paredes dos septos/dutos intra-alveolares, surgimento de perda de áreas ciliadas nos trechos terminais dos bronquíolos, aumento do infiltrado inflamatório, destruição das paredes alveolares e espaço alveolar aumentado (Bartlett, 2024; Demarchi et al., 2022; Liang et al., 2022).

Figura 5 – Cortes histológicos das amostras de pulmão (HE).



Legenda: (A) PBS; (B) PBS+EFC; (C) Uretano; (D, E) Uretano+EFC; (F) Uretano+CR-35; (G) Uretano+CR-35+EFC. Setas pretas: acúmulo de células vermelhas; Seta vermelha: Maior espessamento na parede dos bronquíolos. Representa processos inflamatórios / hemorrágicos. Seta verde: nódulo tumoral.

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

4.2 ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DOS ALVOS ATRAVÉS DA RT-QPCR

Para o gene *Bax*, cujos dados apresentaram distribuição normal, a investigação foi

conduzida por uma Análise de Variância (ANOVA) ordinária. Uma vez que o teste de Brown-Forsythe indicou variâncias homogêneas, um p-valor significativo na ANOVA ($p=0,0072$) levou à aplicação do teste *post-hoc* Turkey para comparações múltiplas. Para o gene *Bcl-2*, a análise seguiu um caminho não-paramétrico, pois dois grupos falharam no teste de normalidade de Shapiro-Wilk (Uretano+CR-35; Uretano+CR-35+EFC). A comparação entre os seis grupos foi realizada através do teste de Kruskal-Wallis, que obteve um resultado não significativo ($p= 0,0879$).

4.2.1 Análise da Expressão Relativa do Gene *Bax*

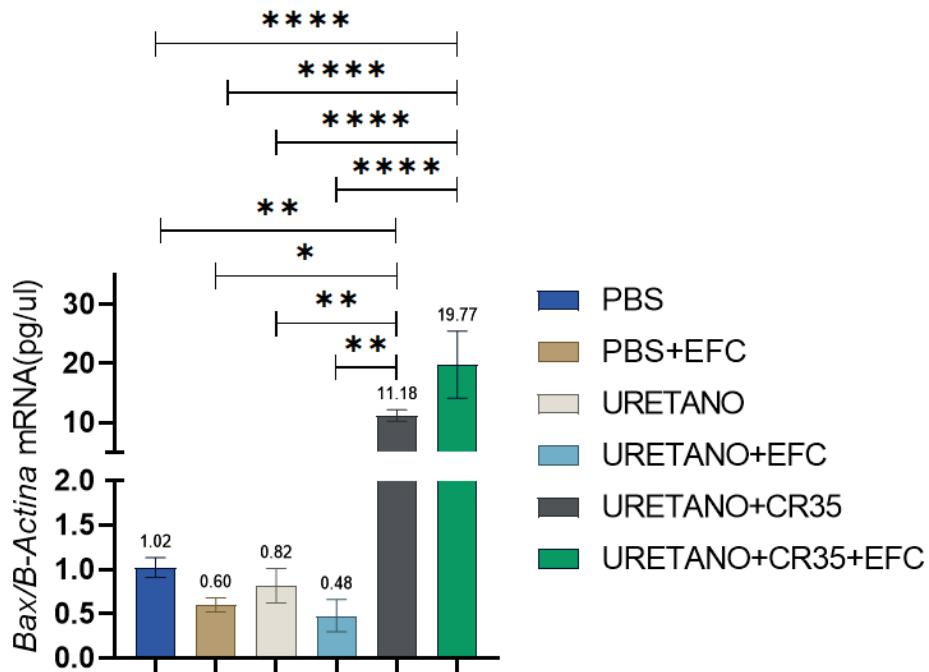
Após encontrar um valor de p significativo no teste one-way ANOVA, a análise *post-hoc* apropriada para comparações múltiplas por Turkey indicou que as diferenças significativas ocorreram dentre os grupos demonstrados na Figura 6. Ambos os grupos onde o composto CR-35 foi utilizado como tratamento obtiveram valores significativos de p , demonstrados na Tabela 1 quando comparados aos demais grupos, mas não entre si. Este achado demonstra a potencial atividade do CR-35 na modulação da via de apoptose através do aumento de expressão do *Bax*. Este comportamento é demonstrado em outros derivados tiazolidínicos (Fu et al., 2022b; Hafez et al., 2021). Para melhor visualização, todos valores ajustados de p foram compilados na tabela 1.

Tabela 1 – Análise estatística da expressão gênica relativa *Bax/B-Actina*

Grupos comparados			Valor ajustado de P
PBS+EFC vs. PBS	No	ns	>0,9999
URETANO vs. PBS	No	ns	>0,9999
URETANO vs. PBS+EFC	No	ns	>0,9999
URETANO+EFC vs. PBS	No	ns	0,9998
URETANO+EFC vs. PBS+EFC	No	ns	>0,9999
URETANO+EFC vs. URETANO	No	ns	>0,9999
URETANO+CR35+EFC vs. URETANO+CR35	No	ns	0,0538
URETANO+CR35 vs. PBS	Yes	**	0,0067
URETANO+CR35 vs. PBS+EFC	Yes	*	0,0283
URETANO+CR35 vs. URETANO	Yes	**	0,0042
URETANO+CR35 vs. URETANO+EFC	Yes	**	0,0042
URETANO+CR35+EFC vs. PBS	Yes	****	<0,0001
URETANO+CR35+EFC vs. PBS+EFC	Yes	****	<0,0001
URETANO+CR35+EFC vs. URETANO	Yes	****	<0,0001
URETANO+CR35+EFC vs. URETANO+EFC	Yes	****	<0,0001

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Figura 6 – Impacto dos diferentes tratamentos na expressão gênica do *Bax*.



Legenda: * p valor <0,05; ** p valor <0,005; **** p valor < 0,0001. As médias estão apresentadas acima das barras.

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Como um gene pró-apoptótico, os valores médios elevados nos grupos tratados indicam uma indução eficiente da via apoptótica, sugerindo um efeito terapêutico promissor. Além disso, a associação entre o tratamento e a exposição ao extrato de fumaça corrobora a modulação gênica esperada dessa via, conforme evidenciado pela análise histológica (Figura 5E). As imagens de microscopia óptica revelam zonas de infiltrado inflamatório, compatíveis com processos inflamatórios desencadeados pela resposta do camundongo ao tratamento. Esses achados sugerem uma reação ao dano tecidual induzido pela carcinogênese associada ao extrato de fumaça.

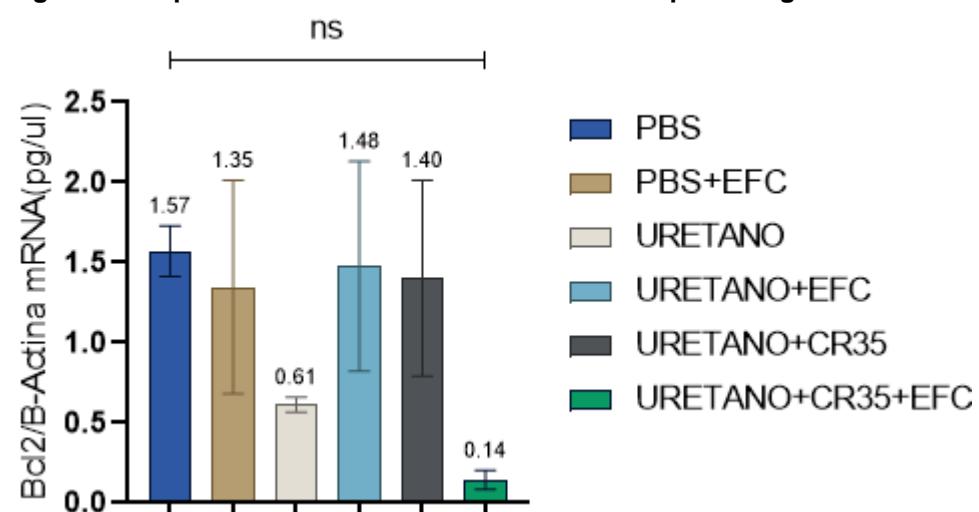
A elevação da expressão de *Bax*, um regulador crucial da via apoptótica intrínseca, é particularmente relevante no contexto de dano induzido pela exposição. O aumento na expressão de *Bax* altera a proporção entre as proteínas pró-apoptóticas (como o próprio *Bax* e o *Bad*) e as anti-apoptóticas, como a *Bcl-2*. Essa modificação no balanço *Bcl-2/Bax* facilita a oligomerização do *Bax* na membrana mitocondrial externa, resultando na liberação do citocromo c e na ativação das caspases efetoras

(Chung et al., 2021; Spitz; Gavathiotis, 2022). A indução da apoptose por essa via é um mecanismo de defesa crucial para eliminar células geneticamente danificadas, o que limita a progressão de lesões pré-malignas. A apoptose também pode desempenhar um papel na resolução da resposta inflamatória observada, uma vez que a eliminação controlada de células danificadas minimiza a liberação de conteúdo celular que perpetuaría a inflamação, como sugerido pela análise histológica (Cosentino et al., 2022; Marchi et al., 2023; Qi et al., 2023).

4.2.2 Análise da expressão relativa do Gene *Bcl-2*

Como demonstrado na Figura 7, o gene *Bcl-2* não sofreu modulação significativa nas condições de tratamento deste estudo. Apesar de apresentar redução acentuada na média dos valores de expressão na condição uretano associado ao EFC após tratamento com CR-35, os valores das demais condições não apresentaram alteração significativa quando comparados ao grupo controle.

Figura 7 – Impacto dos diferentes tratamentos na expressão gênica do *Bcl-2*



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

A ausência de modulação em *Bcl-2* contrasta com a regulação aumentada de *Bax*. Este resultado pode sugerir que o mecanismo de ação do tratamento esteja prioritariamente associado à ativação de vias pró-apoptóticas, em vez da inibição de *Bcl-2* e de sua via antiapoptótica, bem como pode estar relacionado à incapacidade

do composto a modular este gene, sendo necessários estudos complementares para avaliar com maior exatidão, analisando diferentes genes da família BCL-2 ou investigando outras vias de morte celular.

5 CONCLUSÃO

O modelo híbrido de carcinogênese pulmonar, induzido por uretano e associado ao extrato de fumaça, foi estabelecido e analisado histologicamente. As análises demonstraram consistentemente a presença de lesões pulmonares compatíveis com a exposição ao uretano, como hiperplasias atípicas de células alveolares e bronquíolos, que são precursoras do carcinoma, bem como áreas de infiltrado inflamatório e hemorragia, características da inflamação resultante da exposição ao EFC.

Os resultados moleculares indicam que o derivado CR-35 modulou de forma significativa a expressão do gene pró-apoptótico *Bax*, especialmente quando coadministrado com o extrato de fumaça, o que sugere que o composto ageativamente na indução da morte celular programada em resposta ao dano carcinogênico. Embora o gene antiapoptótico *Bcl-2* não tenha apresentado modulação significativa, a tendência de redução observada sugere que o tratamento com o derivado possa estar alterando a proporção *Bax/Bcl-2* de forma a favorecer a apoptose.

Assim, este estudo não apenas estabelece o modelo híbrido como uma ferramenta promissora para investigar os efeitos do tabagismo e o desenvolvimento de novas terapias, mas também elucida um possível mecanismo de ação do derivado CR-35, que atua pela via pró-apoptótica para combater o dano tecidual induzido pela fumaça. Esses achados abrem novas perspectivas para o desenvolvimento de tratamentos que visam à modulação da apoptose no tratamento do câncer de pulmão.

REFERÊNCIAS

- ABRAO, Fernando Conrado *et al.* Impact of the delay to start treatment in patients with lung cancer treated in a densely populated area of Brazil. **Clinics**, v. 72, p. 675–680, 2017.
- AL-TAMEEMI, Shireen *et al.* Cigarette smoking increases plasma levels of IL-6 and TNF- α . **Baghdad Journal of Biochemistry and Applied Biological Sciences**, v. 3, n. 01, p. 60–68, 31 mar. 2022.
- BALALI-MOOD, Mahdi *et al.* Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 13 abr. 2021.
- BANGADE, V. M.; MALI, P. R.; MESHRAM, H. M. Solid-phase reactive chromatography (SPRC): a sustainable method for the synthesis of benzimidazol-diphenyl-2-imino-thiazolidine-4-ols (hemiaminals) which are active against lung cancer. **RSC advances**, v. 11, n. 4, p. 2320–2324, 6 jan. 2021.
- BAR, Monika *et al.* New 4-thiazolidinone-based molecules Les-2769 and Les-3266 as possible PPAR γ modulators. **Bioorganic Chemistry**, v. 128, p. 106075, 1 nov. 2022a.
- BAR, Monika *et al.* New 4-thiazolidinone-based molecules Les-2769 and Les-3266 as possible PPAR γ modulators. **Bioorganic Chemistry**, v. 128, p. 106075, 1 nov. 2022b.
- BARTLETT, Laura Grace. **Defining the pathophysiological impact of cigarette smoke extract in mice as a model for Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)**. Thesis (University of Nottingham only). Disponível em: <<https://eprints.nottingham.ac.uk/78375/>>. Acesso em: 16 ago. 2025.
- BIANCHI, Francesca *et al.* Cigarette smoke sustains immunosuppressive microenvironment inducing M2 macrophage polarization and viability in lung cancer settings. **PLOS ONE**, v. 19, n. 5, p. e0303875, 22 maio 2024.
- BIJLI, Kaiser M. *et al.* PPAR γ depletion stimulates Nox4 expression and human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation. **Free radical biology & medicine**, v. 80, p. 111–120, mar. 2015.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2014/prt0957_26_09_2014.html>. Acesso em: 16 ago. 2025.
- BRASIL. **Tratamento do Câncer de Pulmão**. Disponível em: <<https://www.saude.df.gov.br/documents/37101/0/Protocolo+Tratamento+do+C%C3%A1ncer+de+Pulm%C3%A3o.pdf/27fb3837-a1d6-c3c7-11db-c49c8d821a54?t=1698233496902>>. Acesso em: 16 ago. 2025.

BRASIL, Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde. PROTOCOLO UNIFICADO PARA O TRATAMENTO DAS NEOPLASIAS MALIGNAS NÃO HEMATOLÓGICAS. 2020.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229–263, 2024.

CAINI, Saverio *et al.* Quitting Smoking At or Around Diagnosis Improves the Overall Survival of Lung Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 17, n. 5, p. 623–636, 1 maio 2022.

CAMPUZANO, Thabata Martins Ferreira *et al.* Real world data on cervical cancer treatment patterns, healthcare access and resource utilization in the Brazilian public healthcare system. **PLOS ONE**, v. 19, n. 10, p. e0312757, 30 out. 2024.

CANO, Marisol *et al.* Cigarette smoking, oxidative stress, the anti-oxidant response through Nrf2 signaling, and Age-related Macular Degeneration. **Vision Research, Mechanisms in Macular Degeneration**. v. 50, n. 7, p. 652–664, 31 mar. 2010.

CARVALHO, Márcia V. de; GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, Cassiano F.; SILVA, Adriana R. PPAR Gamma: From Definition to Molecular Targets and Therapy of Lung Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 805, jan. 2021.

CHEN, Fangyuan *et al.* Recent advances and therapeutic applications of PPAR γ -targeted ligands based on the inhibition mechanism of Ser273 phosphorylation. **Metabolism**, v. 163, p. 156097, 1 fev. 2025.

CHEN, Qiang *et al.* The multifaceted therapeutic value of targeting steroid receptor coactivator-1 in tumorigenesis. **Cell & Bioscience**, v. 14, n. 1, p. 41, 29 mar. 2024.

CHEN, Tao *et al.* Cardioprotection from oxidative stress in the newborn heart by activation of PPAR γ is mediated by catalase. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 2, p. 208–215, 15 jul. 2012.

CHEVALLIER, Mathieu *et al.* Oncogenic driver mutations in non-small cell lung cancer: Past, present and future. **World Journal of Clinical Oncology**, v. 12, n. 4, p. 217–237, 24 abr. 2021.

CHUNG, Yuhyun *et al.* Dysregulated autophagy is linked to BAX oligomerization and subsequent cytochrome c release in 6-hydroxydopamine-treated neuronal cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 548, p. 20–26, 9 abr. 2021.

COOK, R. M.; MILLER, Y. E.; BUNN, P. A. Small cell lung cancer: etiology, biology, clinical features, staging, and treatment. **Current Problems in Cancer**, v. 17, n. 2, p. 69–141, 1993.

- COSENTINO, Katia *et al.* The interplay between BAX and BAK tunes apoptotic pore growth to control mitochondrial-DNA-mediated inflammation. **Molecular Cell**, v. 82, n. 5, p. 933- 949.e9, 3 mar. 2022.
- CUI, Huapeng *et al.* Characterization of mainstream cigarette smoke aerosol by size-fractionated chemical analysis of nicotine, solanesol, and tobacco-specific nitrosamines. **Particulate Science and Technology**, v. 38, n. 5, p. 587–595, 3 jul. 2020.
- DAWSON, Marcia I.; XIA, Zebin. The retinoid X receptors and their ligands. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, Retinoid and Lipid Metabolism. v. 1821, n. 1, p. 21–56, 1 jan. 2012.
- DEMARCHI, Carina *et al.* Lung histopathological changes in Swiss mice exposed to narghile smoke. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 58, p. e4442022, 2022.
- DING, Yu *et al.* GLUT3-mediated cigarette smoke-induced epithelial-mesenchymal transition in chronic obstructive pulmonary disease through the NF- κ B/ZEB1 pathway. **Respiratory Research**, v. 25, n. 1, p. 158, 9 abr. 2024.
- DWYER-NIELD, Lori D. *et al.* PPARgamma agonism inhibits progression of premalignant lesions in a murine lung squamous cell carcinoma model. **International Journal of Cancer**, v. 151, n. 12, p. 2195–2205, 2022.
- EVANGELISTA, Guilherme Ferreira de Britto. MECANISMOS IMUNES E BIOMARCADORES SISTÊMICOS ASSOCIADOS AO DESENVOLVIMENTO DE EVENTOS ADVERSOS IMUNOMEDIADOS EM PACIENTES COM CÂNCER TRATADOS COM IMUNOTERAPIA. v. 1, n. 1, p. 102, 2022.
- FAN, Z. *et al.* P59.13 The Prediction Performance of TP53 / RB1 Co-Mutation on Small-Cell Lung Cancer Transformation in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. **Journal of Thoracic Oncology**, Abstracts from the 2021 World Conference on Lung Cancer. v. 16, n. 10, Supplement, p. S1153, 1 out. 2021.
- FRAIRE, A. E. *et al.* Prognostic significance of histopathologic subtype and stage in small cell lung cancer. **Human Pathology**, v. 23, n. 5, p. 520–528, maio 1992.
- FU, Xuefeng *et al.* Thiazolidinedione-Based Structure Modification of Celastrol Provides Thiazolidinedione-Conjugated Derivatives as Potent Agents against Non-Small-Cell Lung Cancer Cells through a Mitochondria-Mediated Apoptotic Pathway. **Journal of Natural Products**, v. 85, n. 4, p. 1147–1156, 22 abr. 2022a.
- FU, Xuefeng *et al.* Thiazolidinedione-Based Structure Modification of Celastrol Provides Thiazolidinedione-Conjugated Derivatives as Potent Agents against Non-Small-Cell Lung Cancer Cells through a Mitochondria-Mediated Apoptotic Pathway. **Journal of Natural Products**, v. 85, n. 4, p. 1147–1156, 22 abr. 2022b.

GUO, Jeng-Hung *et al.* Cigarette smoke promotes IL-6-dependent lung cancer migration and osteolytic bone metastasis. **International Journal of Biological Sciences**, v. 20, n. 9, p. 3257–3268, 3 jun. 2024.

GUPTA, Sneha *et al.* Medicinal Perspective of 2,4-Thiazolidinediones Derivatives: An Insight into Recent Advancements. **ChemistryOpen**, v. 13, n. 11, p. e202400147, 2024.

HAFEZ, Donia E. *et al.* Novel thiazolidine derivatives as potent selective pro-apoptotic agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 114, p. 105143, 1 set. 2021.

HAO, Lidan *et al.* Transformation or tumor heterogeneity: Mutations in EGFR, SOX2, TP53, and RB1 persist in the histological rapid conversion from lung adenocarcinoma to small-cell lung cancer. **Thoracic Cancer**, v. 14, n. 11, p. 1036–1041, 2023.

HOWLADER, Nadia *et al.* The Effect of Advances in Lung-Cancer Treatment on Population Mortality. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 7, p. 640–649, 12 ago. 2020.

IIZUKA, Takashi *et al.* Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema. **Genes to Cells**, v. 10, n. 12, p. 1113–1125, 2005.

INCA. **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Nacional De Câncer, 2023.

INCA, Publicado em 04/06/2022 01h58 Atualizado. **Câncer de pulmão**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pulmao>>. Acesso em: 16 ago. 2025.

INCA, Publicado em 23/06/2022 10h13 Atualizado. **Estatísticas de câncer**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estatisticas-de-cancer>>. Acesso em: 16 ago. 2025.

INCA, Publicado em 23/11/2022 11h23 Atualizado. **INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>>. Acesso em: 16 ago. 2025.

IREP, Nesrin *et al.* Exosome inhibition improves response to first-line therapy in small cell lung cancer. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 28, n. 4, p. e18138, 2024.

JI, Xiaohui *et al.* The Potential Roles of Post-Translational Modifications of PPAR γ in Treating Diabetes. **Biomolecules**, v. 12, n. 12, p. 1832, dez. 2022.

KALENIUK, Edyta *et al.* Anticancer Properties of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) Potential Agonists 4-Thiazolidinone-Pyrazoline Hybrids

Les-4368 and Les-4370 in Colorectal Adenocarcinoma Cells In Vitro. **Applied Sciences**, v. 14, n. 17, p. 7692, jan. 2024.

KATSOURI, Loukia et al. PPARy Co-Activator-1 α (PGC-1 α) Reduces Amyloid- β Generation Through a PPARy-Dependent Mechanism. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 25, n. 1, p. 151–162, 14 jun. 2011.

KENFIELD, Stacey A. et al. Comparison of Aspects of Smoking Among Four Histologic Types of Lung Cancer. **Tobacco control**, v. 17, n. 3, p. 198–204, jun. 2008.

KEOHAVONG, Phouthone; PETER DI, Y. Pulmonary Inflammation and KRAS Mutation in Lung Cancer. In: WANG, Yong-Xiao (Org.). **Lung Inflammation in Health and Disease, Volume I**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 71–87.

KHALAF, Marwa M. et al. Novel therapeutic modalities target cell signaling of Renin-Angiotensin system/NF- κ B-induced cell cycle arrest and apoptosis in urethane-induced lung cancer in mice: An in vivo study. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 36, n. 10, p. e23162, out. 2022.

KHAN, Shoaib et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of pyrimidine based thiazolidinone derivatives as potential anti-urease and anti-cancer agents. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 27, n. 4, p. 101688, 1 jul. 2023.

KIM, Hyungjin et al. Hierarchical regulation of mitochondrion-dependent apoptosis by BCL-2 subfamilies. **Nature Cell Biology**, v. 8, n. 12, p. 1348–1358, dez. 2006.

LEUNG, Elaine Lai-Han et al. Holistic immunomodulation for small cell lung cancer. **Seminars in Cancer Biology**, v. 88, p. 96–105, jan. 2023.

LI, Siqi; COUNTER, Christopher M. Signaling levels mold the RAS mutation tropism of urethane. **eLife**, v. 10, p. e67172, 17 maio 2021.

LIANG, Guibin et al. Existence of multiple organ aging in animal model of emphysema induced by cigarette smoke extract. **Tobacco Induced Diseases**, v. 20, p. 02, 17 jan. 2022.

MARCHI, Saverio et al. Mitochondrial control of inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 23, n. 3, p. 159–173, mar. 2023.

MELNIKOV, Nataly et al. Mitochondrial VDAC1 Silencing in Urethane-Induced Lung Cancer Inhibits Tumor Growth and Alters Cancer Oncogenic Properties. **Cancers**, v. 16, n. 17, p. 2970, jan. 2024.

MITHOOWANI, Hamid; FEBBRARO, Michela. Non-Small-Cell Lung Cancer in 2022: A Review for General Practitioners in Oncology. **Current Oncology**, v. 29, n. 3, p. 1828–1839, mar. 2022.

MOCHIZUKI, Akifumi *et al.* Passive Smoking–Induced Mutagenesis as a Promoter of Lung Carcinogenesis. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 19, n. 7, p. 984–994, 1 jul. 2024.

MORILLAS, Héctor; GALLEGOS-CARTAGENA, Euler; UPASEN, Settakorn. Metals, nonmetals and metalloids in cigarette smoke as hazardous compounds for human health. **Science of The Total Environment**, v. 923, p. 171351, 1 maio 2024.

NAN, Zhang *et al.* The Predictive Efficacy of Tumor Mutation Burden (TMB) on Nonsmall Cell Lung Cancer Treated by Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-Analysis. **BioMed Research International**, v. 2021, n. 1, p. 1780860, 2021.

NAUMENKO, Ekaterina Anatolevna; AHLEMEYER, Barbara; BAUMGART-VOGT, Eveline. Species-specific differences in peroxisome proliferation, catalase, and SOD2 upregulation as well as toxicity in human, mouse, and rat hepatoma cells induced by the explosive and environmental pollutant 2,4,6-trinitrotoluene. **Environmental Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 989–1006, 2017.

NIE, Shuang *et al.* PPAR γ /SOD2 Protects Against Mitochondrial ROS-Dependent Apoptosis via Inhibiting ATG4D-Mediated Mitophagy to Promote Pancreatic Cancer Proliferation. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 2 fev. 2022.

PONS-TOSTIVINT, Elvire *et al.* STK11/LKB1 Modulation of the Immune Response in Lung Cancer: From Biology to Therapeutic Impact. **Cells**, v. 10, n. 11, p. 3129, nov. 2021.

QI, Hong *et al.* Mitochondrial outer membrane permeabilization and inner membrane permeabilization in regulating apoptosis and inflammation. **Journal of Theoretical Biology**, v. 571, p. 111558, 21 ago. 2023.

RANASINGHE, Ranmali; MATHAI, Michael L.; ZULLI, Anthony. Cisplatin for cancer therapy and overcoming chemoresistance. **Heliyon**, v. 8, n. 9, 1 set. 2022.

ROCHA, Danielly Maximino da *et al.* TENDÊNCIA TEMPORAL DE MORTALIDADE POR CÂNCER DE PULMÃO NO ESTADO DO PARANÁ, 2016 A 2021: UMA ANÁLISE DE DADOS DO DATASUS. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 8, p. 2571–2582, 31 ago. 2023.

ROMANI, Andrea M. P. Cisplatin in cancer treatment. **Biochemical Pharmacology**, v. 206, p. 115323, 1 dez. 2022.

ROSENTHAL, Daniel *et al.* Câncer de Pulmão de Células Não Pequenas: Avanços no Diagnóstico e Terapias Alvo. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 7, n. 6, p. 1256–1269, 26 jun. 2025.

RUDIN, Charles M. *et al.* Small-cell lung cancer. **Nature reviews. Disease primers**, v. 7, n. 1, p. 3, 14 jan. 2021.

SÁNCHEZ-ORTEGA, Miriam; CARRERA, Ana Clara; GARRIDO, Antonio. Role of NRF2 in Lung Cancer. **Cells**, v. 10, n. 8, p. 1879, ago. 2021.

SANTOS, Brenda Costa et al. CÂNCER DE PULMÃO. **Revista Acadêmica Saúde e Educação**, v. 3, n. 01, 2 jul. 2024.

SILVA, Maryana do Nascimento da. IMPACTO DOS TRITERPENOIDES NA RESPOSTA DE CÉLULAS DE CARCINOMA CERVICAL FRENTE AO DANO PARALELO FOTOQUÍMICO. **São Paulo**, 2021.

SINGH, Dalbir et al. Anticancer Potential of Compounds Bearing Thiazolidin-4-one Scaffold: Comprehensive Review. **Pharmacophore**, v. 14, n. 1, p. 56–70, 2023.

SOUZA, Mirian Carvalho de et al. Perfil dos pacientes com câncer de pulmão atendidos no Instituto Nacional de Câncer, segundo condição tabagística, 2000 a 2007. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 17, p. 175–188, 2014.

SOZIO, Francesca et al. Urethane-induced lung carcinogenesis. **Methods in Cell Biology**, v. 163, p. 45–57, 2021.

SPITZ, Adam Z.; GAVATHIOTIS, Evripidis. Physiological and pharmacological modulation of BAX. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 43, n. 3, p. 206–220, 1 mar. 2022.

SZYCHOWSKI, Konrad A. et al. 4-thiazolidinone-based derivatives rosiglitazone and pioglitazone affect the expression of antioxidant enzymes in different human cell lines. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111684, 1 jul. 2021.

TAN, Zhaofeng et al. The Role of Tumor Inflammatory Microenvironment in Lung Cancer. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 17 maio 2021.

TSAO, M. PL01.05 The New WHO Classification of Lung Tumors. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 16, n. 3, p. S63, 1 mar. 2021.

TSENG, Jeng-Sen et al. Association of Smoking With Patient Characteristics and Outcomes in Small Cell Lung Carcinoma, 2011-2018. **JAMA Network Open**, v. 5, n. 3, p. e224830, 30 mar. 2022.

UMEMOTO, Tomoe; FUJIKI, Yukio. Ligand-dependent nucleo-cytoplasmic shuttling of peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR α and PPAR γ . **Genes to Cells**, v. 17, n. 7, p. 576–596, 2012.

VIEIRA, Sabas Carlos et al. **Oncologia básica**. [S.I.]: Fundação Quixote, 2012.

VINEIS, P. et al. Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. **BMJ**, v. 330, n. 7486, p. 277, 5 fev. 2005.

WANG, Xiao; CHIANG, Anne C. Big Decisions on Small Cell Lung Cancer: A Focus on Clinical Care Updates and Patient Perspectives. **American Society of Clinical Oncology Educational Book**, v. 44, n. 3, p. e432520, jun. 2024.

WANG, Xiaojie *et al.* Histological types of lung cancer attributable to fine particulate, smoking, and genetic susceptibility. **Science of The Total Environment**, v. 858, p. 159890, 1 fev. 2023a.

WANG, Xinan *et al.* Prediagnosis Smoking Cessation and Overall Survival Among Patients With Non–Small Cell Lung Cancer. **JAMA Network Open**, v. 6, n. 5, p. e2311966, 5 maio 2023b.

WAWRYK-GAWDA, Ewelina *et al.* Lung histomorphological alterations in rats exposed to cigarette smoke and electronic cigarette vapour. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 4, p. 2826–2832, 1 abr. 2020.

WHO. **Lung cancer**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lung-cancer>>. Acesso em: 16 ago. 2025.

YAZBECK, Victor *et al.* Chapter One - An overview of chemotoxicity and radiation toxicity in cancer therapy. In: GEWIRTZ, David A.; FISHER, Paul B. (Orgs.). **Advances in Cancer Research**. Strategies to Mitigate the Toxicity of Cancer Therapeutics. [S.l.]: Academic Press, 2022. v. 155 p. 1–27.

ZENGİN KURT, Belma *et al.* Synthesis, cytotoxic evaluation, and *in silico* studies of novel benzenesulfonamide-thiazolidinone derivatives against colorectal carcinoma. **Journal of Molecular Structure**, v. 1321, p. 140153, 5 fev. 2025a.

ZENGİN KURT, Belma *et al.* Synthesis, cytotoxic evaluation, and *in silico* studies of novel benzenesulfonamide-thiazolidinone derivatives against colorectal carcinoma. **Journal of Molecular Structure**, v. 1321, p. 140153, 5 fev. 2025b.

ZHANG, Meng-Yu *et al.* Cigarette smoke extract induces pyroptosis in human bronchial epithelial cells through the ROS/NLRP3/caspase-1 pathway. **Life Sciences**, v. 269, p. 119090, 15 mar. 2021a.

ZHANG, Meng-Yu *et al.* Cigarette smoke extract induces pyroptosis in human bronchial epithelial cells through the ROS/NLRP3/caspase-1 pathway. **Life Sciences**, v. 269, p. 119090, 15 mar. 2021b.

ZHANG, Xiaotao *et al.* Simultaneous determination of tobacco minor alkaloids and tobacco-specific nitrosamines in mainstream smoke by dispersive solid-phase extraction coupled with ultra-performance liquid chromatography/tandem orbitrap mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 32, n. 20, p. 1791–1798, 2018.

ANEXO A

CERTIFICAÇÃO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 02 de agosto de 2024

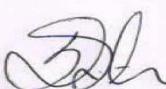
Ofício nº 65/24

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof. Maira Galdino da Rocha Pitta
Departamento de Nutrição
Processo nº 0050/2024

Certificamos que a proposta intitulada **“Investigação do Efeito Antifibrótico e Imunomodulador de Novos Derivados Tiazolidínicos em um Modelo de Fibrose Pulmonar Associado ao Tabagismo”**, Registrado com o nº **0050/2024** sob a responsabilidade da Prof.ª **Maira Galdino da Rocha Pitta**, Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/07/2024

Finalidade	(<input type="checkbox"/> Ensino (<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica)
Vigência da autorização	01/09/2024 a 31/12/2025
Espécie/linhagem/raça	Mus musculus (camundongo, linhagem C57BL/6, isogênico)
Nº de animais	60 Animais
Peso/Idade	12-20g/ 4-6 semanas
Sexo	Fêmea (60)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (DFF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (DFF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Atenciosamente


Prof. Sebastião R. F. Silva
UFPE

-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691