

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

LARISSE TAVARES LUCETTI

EFEITO DA PENTOXIFILINA E DA DEXAMETASONA NA RESPOSTA  
INFLAMATÓRIA E NAS ALTERAÇÕES DA MOTILIDADE DIGESTIVA  
ASSOCIADAS À MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5- FLUOROURACIL EM  
RATOS.

FORTALEZA  
2009

LARISSE TAVARES LUCETTI

EFEITO DA PENTOXIFILINA E DA DEXAMETASONA NA RESPOSTA  
INFLAMATÓRIA E NAS ALTERAÇÕES DA MOTILIDADE DIGESTIVA  
ASSOCIADAS À MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5- FLUOROURACIL EM  
RATOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcellus Henrique  
Loiola Ponte de Souza.

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Marcos  
Gomes Soares.

FORTALEZA  
2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

---

L968e Lucetti, Larisse Tavares

Efeito da pentoxifilina e da dexametasona na resposta inflamatória e nas alterações da motilidade digestiva associadas à mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil em ratos. / Larisse Tavares Lucetti. – 2009.

76f. : il. color

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2009.

Orientação: Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza.

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares

1. Mucosite. 2. Doenças inflamatórias intestinais. 3. Fluoruracila. 4. Pentoxifilina.  
5. Dexametasona. I. Título

CDD: 616.344

---

LARISSE TAVARES LUCETTI

EFEITO DA PENTOXIFILINA E DA DEXAMETASONA NA RESPOSTA  
INFLAMATÓRIA E NAS ALTERAÇÕES DA MOTILIDADE DIGESTIVA  
ASSOCIADAS À MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5- FLUOROURACIL EM  
RATOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título  
de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: 31/07/2009

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares (Co- orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Profa. Dra. Vilma de Lima  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Profa. Dra. Ana Maria Sampaio Assreuy  
Universidade Estadual do Ceará -UECE

A Deus, primeiramente, sempre e em tudo pela  
força, discernimento e sabedoria.

Aos meus pais George e Niedja, minhas irmãs  
Luciana, Louise e Lívia por toda dedicação a minha  
formação profissional e pessoal.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Marcellus Henrique**, por ter me acolhido no laboratório LAFICA. Agradeço cada minuto dedicado, os quais foram de muita importância para o meu crescimento como pesquisadora e por ter acreditado em mim. Por ter sido um grande mestre, por quem tenho enorme admiração.

Ao **Prof. Dr. Pedro Soares**, pela paciência, apoio e dedicação. Um verdadeiro amigo que me incentivou bastante com seus conhecimentos e sua prática.

À **Prof. Dr. Ronaldo Ribeiro**, agradeço a oportunidade de participar da equipe de grandes pesquisadores do LAFICA e por toda a estrutura para a realização do meu trabalho. Obrigada pelo auxílio no andamento das pesquisas.

À **Profa. Dra. Gerly Anne de Castro Brito** pelo seu incentivo e orientação nos experimentos de análise histológica.

Às **Profa. Dra. Mariana Lima Vale**, pelo compromisso e organização do laboratório.

Às professoras **Dra. Ana Maria Sampaio Assreuy** e **Dra. Vilma de Lima** pela disposição em compor a banca de avaliação do trabalho.

A todos os outros professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, que contribuíram de alguma forma para minha formação no mestrado.

Aos meus amigos e colegas da pós-graduação do Laboratório LAFICA, **Antoniela, Jand-Venes, André Luis e Roberto César**, os quais se disponibilizaram a me ensinar e me ajudar nas realizações dos experimentos, e em todo decorrer do meu trabalho. Pelas horas de descontração, pelas conversas paralelas, por tornarem o trabalho mais divertido.

Aos meus amigos de pós-graduação, **Caroline Leite, Otacílio, Roberta, Carol Adson, Deisy, Ana Paula, Felipe, Juliana, Adriana, Hidemburgo, Fabiano Magacho, José Roberto e Danilo** pelo apoio, cooperação e amizade.

Aos estudantes de Iniciação Científica: **Victor e Natanael**, e em especial a **Graciela** que foi, sem dúvida, grande companheira e amiga na execução de parte desses experimentos.

Aos técnicos, **Maria Silvandira França Pinheiro (Vandinha)** pela atenção, disponibilidade e organização do laboratório LAFICA. **José Ivan Rodrigues de Sousa** pela disponibilidade e atenção na confecção das lâminas histológicas. **A Socorro e Suzana** pela grande ajuda na confecção das lâminas de imunohistoquímica. Antônio

**Haroldo** Pinheiro Ferreira pela colaboração e organização do biotério. A **Carol** e a **Tiara**, pela disponibilidade e ajuda nos experimentos.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro concedido.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais **George Lucetti** e **Niedja Tavares** pela dedicação e esforço incondicionais aos meus estudos, minhas irmãs, **Luciana, Louise** e **Lívia**, meus primos **Bárbara, Igor** e **Luana**, e aos meus avós, **Mary Lucetti, Pedro Tavares** e **Maria Tavares**, por me ensinarem o verdadeiro significado do amor.

Aos meus amigos **Caroline Leite, Allana, Glauco, Lícia, Fabíola, Daniel Nasser, Igor Vieira, Ingrid Karam, Luzia Júlia, Renata, Mael, Josué, Alfredo, Daniela, Rita Nasser, Cinde, Clonilo, Jordana, Priscilla, Fabrícia, Lilianne** e **Carlos Alberto** que estão presentes no meu dia a dia, me apoiando, me ajudando nas horas difíceis também. Sou muito grata por saber que os tenho a qualquer hora.

Ao meu diretor espiritual **Pe. Airton Freire**, que me fez ver a vida de uma maneira mais simples e estar cada vez mais perto de Deus.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram em alguma etapa da execução do meu trabalho.



Por isso, cabe a ti discernir, cabe primeiramente pensar aonde tu queres ir e isto sendo definido poderás dizer isso eu posso fazer, isso é pertinente ao meu querer, isso depende de mim, isso está para além de mim e em, assim acontecendo as coisas aos poucos irão se esclarecendo e se antes fora escura a noite para ti, a partir daí, o dia irá amanhecer.

Pe. Airton Freire

## RESUMO

**Introdução:** A mucosite induzida por antineoplásicos é um fator limitante na terapia anticâncer. Mucosite é um termo clínico que descreve uma síndrome caracterizada por ulceração da mucosa de todo o trato digestivo. O trato gastrointestinal é vulnerável por causa da alta proliferação e frequência de renovação celular. Assim, a mucosite intestinal resulta de eventos inflamatórios, que levam as alterações de permeabilidade e trânsito intestinal e de alterações na motilidade intestinal tanto na fase inflamatória, como na fase pós-inflamatória. Pentoxifilina (PTX) é um importante inibidor da síntese de citocinas, além de apresentar efeito protetor sobre a mucosite oral por 5-FU em hamster. A dexametasona (DEXA) é um glicocorticoide cujo principal efeito farmacológico decorre de sua ação antiinflamatória e imunossupressora. **Objetivos:** Avaliar o efeito do tratamento com pentoxifilina ou dexametasona na resposta inflamatória e nas alterações da motilidade digestiva associadas a mucosite intestinal experimental induzida por 5-FU. **Métodos:** Ratos Wistar machos (200 – 250g) foram tratados no d0 com 5-FU (150 mg/Kg, i.p. dose única) ou com 5-FU + PTX (90mg/Kg, s.c.) ou 5-FU + DEXA (2,5mg/Kg, i.p.). A PTX e a DEXA foram administradas meia hora após a administração de 5-FU no d0 e diariamente até o sacrifício. No d3 os animais foram sacrificados, amostras do duodeno, jejuno e íleo, foram removidas para avaliar a injúria epitelial por morfometria, escores histológicos, pela atividade de MPO e pela concentração de GSH. Para avaliação de citocinas amostras de duodeno foram retiradas e pelo método de ELISA foi determinada a concentração de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  e pela imunohistoquímica foi observado a imunomarcção. Já na técnica de esvaziamento gástrico os animais receberam o mesmo tratamento descrito anteriormente. Posteriormente, foram deixados em jejum de 18 horas do d2 para o d3. No d3, foram administrados 1,5 ml da solução glicosada (5%) contendo vermelho de fenol (VF) a 0,75 mg/ml em cada animal. Após 20 min, os animais foram sacrificados e submetidos a uma laparotomia mediana. O intestino delgado foi exposto e dividido em 3 partes iguais: proximal, medial e distal. Com o auxílio de uma proveta contendo uma solução de NaOH (100ml, 0,1N) o volume do estômago e dos segmentos do intestino delgado foram determinados. A absorbância da amostra foi lida sob um comprimento de onda de 540 nm. **Resultados:** O tratamento com 5-FU foi capaz de induzir uma lesão intestinal com um importante comprometimento da barreira epitelial funcional com a presença das seguintes alterações: encurtamento acentuado das vilosidades intestinais, necrose parcial de criptas, vacuolização de células, presença de infiltrado mono e polimorfonucleares, produção de radicais livres com consumo de GSH, aumento na concentração de TNF- $\alpha$  e IL-1 com maior imunomarcção (no duodeno) e alterações na motilidade digestiva. O tratamento com DEXA e PTX reduziu significativamente as lesões intestinais, com recuperação da altura dos vilos, recuperação da profundidade das criptas, diminuição do infiltrado neutrofílico, aumento dos níveis de glutathione e redução da concentração de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  com uma menor imunomarcção. Contudo somente o tratamento com DEXA foi capaz de reverter o retardo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrointestinal. **Conclusão:** 5-FU induz mucosite intestinal em ratos com a participação de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , a qual se associa com retardo no esvaziamento gástrico e no trânsito gastrointestinal. O tratamento com PTX ou DEXA foram capazes de reverter parte dos achados inflamatórios, entretanto, somente o tratamento com DEXA foi capaz de reverter parcialmente às alterações na motilidade digestiva associadas a mucosite por 5-FU em ratos.

**Palavras-chave:** Mucosite, Doenças inflamatórias intestinais, Fluoruracila, Pentoxifilina, Dexametasona, Ratos.

## ABSTRACT

**Introduction:** One of the most important limitation of antineoplastic chemotherapy is the intestinal mucositis. Mucositis is a clinical term which describes a syndrome characterized for ulceration in the digestive tract. Gastrointestinal tract is vulnerable because it has elevated proliferation cellular renovation. Intestinal mucositis results in inflammatory events, that leads the alterations in permeability and gastrointestinal motility in the inflammatory phase, as in the post-inflammatory phase. Pentoxifylline (PTX) is important inhibitor of the cytokines synthesis, with a protective effect against 5-FU- induced oral mucositis in hamster. Dexamethasone (DEXA) is glucocorticoid with anti-inflammatory and immunosuppressive effects. **Aim:** To evaluate the effect of the pentoxifylline or dexamethasone treatments in the inflammatory response and alterations of the gastrointestinal motility associated with 5-FU-induced intestinal mucositis. **Methods:** Male Wistar rats (200 – 250g) treated in d0 by 5-FU (150 mg/Kg, i.p. only dose) or 5-FU + PTX (90 mg/Kg, s.c.) or 5-FU + DEXA (2.5mg/Kg, i.p.). PTX or DEXA were administered 30' after 5-FU, and then daily. In d3, animals were sacrificed, samples duodenum, jejunum and ileum were removed for assessment epithelial damage for morphometric, histological scores, MPO activity and GSH concentration. In order to evaluate the concentration of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , duodenum samples were removed and ELISA or immunohistochemical for these cytokines were performed. In order to evaluate the gastrointestinal motility, animals received same treatment described previously, then were fasted for 18h of the d2 to d3. In d3 the animals were gavage-fed with a test meal and sacrificed 20 min later. Stomach and consecutive intestinal segments same (proximal, medial and distal) were obtained. Each segment was placed in a measuring cylinder and the volume measured by adding 100 mL of 0.1 NaOH. The absorbance of the sample was read at a 540 nm. **Results:** The treatment with 5-FU induced intestinal damage with an important disruption of the functional epithelial barrier and presence of these following alterations: shortening villus, partial necrosis crypts, vacuolated cells, presence of infiltrated mono and polymorphonuclears, production of free radicals with GSH consumption, increase in the concentration of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the duodenum, and gastrointestinal dysmotility. The treatment with DEXA and PTX significantly reduced the intestinal damage, with recovery of the high villus, depth of crypt, reduction of the neutrophil infiltration, increase of the levels of glutathione and reduction in the TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  concentrations. However, only the treatment with DEXA was able to reverse the delays gastric emptying and gastrointestinal transit induced by intestinal mucositis. **Conclusion:** 5-FU induces intestinal mucositis in rats with the participation of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . It associates with delayed gastric emptying and gastrointestinal transit. We conclude also that PTX or DEXA- treatments decrease the inflammatory response. On the other hand, only DEXA treatment reversed gastrointestinal dysmotility associated with 5-FU- induced intestinal mucositis in rats.

**Keywords:** Mucositis, Inflammatory bowel diseases, Pentoxifylline, Fluorouracil, Dexamethasone, Rats.

## LISTA DE FIGURAS

1.	Estrutura química do 5-Fluorouracil (5-FU) .....	21
2.	Estrutura química da Pentoxifilina (PTX) .....	25
3.	Estrutura química da Dexametasona (DEXA) .....	26
4.	Mecanismo de ação da Dexametasona .....	28
5.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações morfológicas nos segmentos intestinais por 5- FU em ratos. ....	43
6.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no duodeno induzidas por 5- FU em ratos .....	44
7.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no duodeno induzidas por 5- FU em ratos .....	45
8.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no jejuno induzidas por 5- FU em ratos. ....	46
9.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no jejuno induzidas por 5- FU em ratos .....	47
10.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no íleo induzidas por 5- FU em ratos .....	48
11.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no íleo induzidas por 5- FU em ratos .....	49
12.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA no aumento da atividade de MPO nos segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos .....	51
13.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA na diminuição da concentração de GSH nos segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos .....	52
14.	Fotomicrografias de imunohistoquímica para TNF- $\alpha$ (A- D) ou IL-1 $\beta$ (E- H) do duodeno de ratos (400X) .....	54
15.	Esvaziamento gástrico de líquidos, em ratos acordados e tratados com 5-FU ou salina (controle) .....	55
16.	Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nos retarde do esvaziamento gástrico e do transito gastrintestinal induzidas por 5- FU em ratos .....	56

## LISTA DE TABELAS

1.	Análise histomorfométrica e histopatológica .....	35
2.	PTX ou DEXA não alteraram a leucopenia induzida por 5-FU .....	41
3.	Escores histopatológicos nos segmentos intestinais de ratos submetidos à mucosite intestinal induzida por 5-FU e tratados ou não com PTX ou DEXA .....	50
4.	O tratamento com PTX ou DEX reduziu o aumento da concentração TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ induzida por 5-FU em duodeno de ratos .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\alpha$	ALFA
$\beta$	BETA
$\gamma$	GAMA
$\mu\text{L}$	MICROLITRO
$\mu\text{m}$	MICRÔMETRO
5-FU	5-FLUOROURACIL
ANOVA	ANÁLISE DE VARIÂNCIA
ATP	TRIFOSFATO DE ADENOSINA
BSA	ALBUMINA SÉRICA BOVINA
CADS	SÍNDROME DISPÉPTICA ASSOCIADO À QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER
cAMP	MONOFOSFATO DE ADENOSINA CÍCLICO
COX-2	CICLOOXIGENASE-2
CPT-11	CLORIDRATO DE IRINOTECANO
DAB	3,3´DIAMINOBENZIDINE-PERÓXIDO
DHFU	DIIDROFLUOROURACIL
DNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLÉICO
DEXA	DEXAMETASONA
DHFU	DIIDROFLUOROURACIL
DPD	DIIDROPIRIMIDINA DESIDROGENASE
dTMP	DEOXITIMIDINA MONOFOSFATO
dUMP	DEOXIURIDINA MONOFOSFATO
dUTP	DEOXIURIDINA TRIFOSFATO
ELISA	ENZYME-LINKED IMMUNOABSORBENT ASSAY (ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO)
EPM	ERRO PADRÃO DA MÉDIA
FdUMP	MONOFOSFATO DE FLUORDEOXIURIDINA
FdUTP	TRIFOSFATO DE FLUORDEOXIURIDINA
FUTP	TRIFOSFATO DE FLUORURIDINA
FUMP	MONOFOSFATO DE FLUORURIDINA
FUDP	DIFOSFATO DE FLUORURIDINA

FUDR	FLUORDEOXIURIDINA
g	GRAMA
GSH	GLUTATIONA
GLC	GLICOCORTICÓIDES
HTAB	HEXADECITRIMETILAMÔNIO
IFN	INTERFERON
IL-	INTERLEUCINA
IL-1ra	ANTAGONISTA DO RECEPTOR DE IL-1
IκB	PROTEÍNA INIBITÓRIA DE KAPPA BETA
ICAM-1	MOLÉCULA DE ADESÃO INTERCELULAR 1
i.p.	INTRAPERITONEAL
KC	QUIMIOCINA DERIVADA DE QUERATINÓCITOS
kg	QUILOGRAMA
LPS	LIPOPOLISSACARÍDEO
M	MOLAR
mg	MILIGRAMA
ml	MILILITRO
mm <sup>3</sup>	MILÍMETRO CÚBICO
MPO	MIELOPEROXIDASE
MTX	METOTREXATO
NaCl	CLORETO DE SÓDIO
NO	ÓXIDO NÍTRICO
NOS	ÓXIDO NÍTRICO SINTETASE
NOS <sub>c</sub>	ÓXIDO NÍTRICO SINTETASE CONSTITUTIVA
NOS <sub>i</sub>	ÓXIDO NÍTRICO SINTETASE INDUZIDA
OPD	O-FENILENEDIAMINE DIIDROCLORETO
NP-SH	GRUPOS SULFIDRÍLICOS NÃO PROTEICOS
NF-κB	FATOR NUCLEAR KAPPA BETA
PLA <sub>2</sub>	FOSFOLIPASE A2
PMN	LEUCÓCITOS POLIMORFONUCLEARES
PBS	SOLUÇÃO TAMPONADA DE FOSFATO
pg	PICOGRAMA
PG	PROSTAGLANDINA
PGE <sub>2</sub>	PROSTAGLANDINA E <sub>2</sub>

PGI <sub>2</sub>	PROSTAGLANDINA I <sub>2</sub>
PTX	PENTOXIFILINA
RNA	ÁCIDO RIBONUCLÉICO
s.c.	SUBCUTÂNEA
TGF-	FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR
TF	FATOR DE TRANSCRIÇÃO
TNF- $\alpha$	FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA
TS	TIMIDILATO SINTASE
TXA <sub>2</sub>	TROMBOXANO A <sub>2</sub>
VF	VERMELHO DE FENOL
v.o.	VIA ORAL



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>1.1</b>	<b>5-Fluorouracil</b> .....	20
<b>1.2</b>	<b>Mucosite Intestinal</b> .....	22
1.2.1	<i>Papel das citocinas na mucosite intestinal</i> .....	22
1.2.2	<i>Aspectos funcionais da mucosite intestinal</i> .....	24
<b>1.3</b>	<b>Pentoxifilina (PTX)</b> .....	24
<b>1.4</b>	<b>Dexametasona (DEXA)</b> .....	26
<b>1.5</b>	<b>Mucosite por antineoplásicos e a contribuição do Lafica</b> .....	29
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	31
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	31
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	31
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
<b>3.1</b>	<b>Animais</b> .....	33
<b>3.2</b>	<b>Fármacos e diluentes</b> .....	33
<b>3.3</b>	<b>Modelo de mucosite intestinal induzida por 5-FU e tratamentos com Pentoxifilina e Dexametasona</b> .....	33
<b>3.4</b>	<b>Leucograma</b> .....	34
<b>3.5</b>	<b>Análise morfométrica e histopatológica</b> .....	34
<b>3.6</b>	<b>Ensaio para mieloperoxidase (MPO)</b> .....	35
<b>3.7</b>	<b>Determinação de Glutathiona (GSH)</b> .....	36
<b>3.8</b>	<b>Dosagem de TNF-<math>\alpha</math> e IL-1<math>\beta</math></b> .....	36
<b>3.9</b>	<b>Imunohistoquímica para TNF-<math>\alpha</math> e IL-1<math>\beta</math></b> .....	36
<b>3.10</b>	<b>Esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal na mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos</b> .....	37
<b>3.11</b>	<b>Efeito do tratamento com Pentoxifilina e Dexametasona no retarde do esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal observado na mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos</b> .....	39
<b>3.12</b>	<b>Análise estatística</b> .....	39
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	41
<b>4.1</b>	<b>Efeito do tratamento com PTX e DEXA sobre a leucopenia induzida por 5-FU em ratos</b> .....	41
<b>4.2</b>	<b>PTX e DEXA reduziram as alterações intestinais morfométricas</b>	

	induzidas por 5-FU em ratos .....	41
4.3	<b>Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas nos segmentos intestinais induzidas por 5-FU em ratos.....</b>	42
4.4	<b>Efeito da PTX ou DEXA nos escores morfológicos de lesão intestinal por 5-FU em ratos .....</b>	50
4.5	<b>Efeito do tratamento com PTX ou DEXA no aumento da atividade de MPO nos segmentos intestinais induzido por 5-FU em ratos.....</b>	51
4.6	<b>Efeito do tratamento com PTX ou DEXA na diminuição da concentração de GSH nos segmentos intestinais induzidas por 5-FU em ratos .....</b>	52
4.7	<b>PTX e DEXA reverteram o aumento dos níveis de TNF-<math>\alpha</math> e IL-1<math>\beta</math> no duodeno induzido por 5-FU em ratos .....</b>	52
4.8	<b>Esvaziamento gástrico de líquidos em ratos acordados e tratados com 5-FU .....</b>	55
4.9	<b>DEXA, mas não PTX, reverte o retardo do esvaziamento e do trânsito gastrintestinal .....</b>	55
5	<b>DISCUSSÃO .....</b>	58
6	<b>CONCLUSÕES .....</b>	65
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	67

## ***INTRODUÇÃO***

---

---

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer estabelecido, doença de alta prevalência e incidência, para o qual existem três abordagens principais de tratamento, excisão cirúrgica, irradiação e quimioterapia e o papel de cada uma delas vão depender do tipo de tumor e do estágio de seu desenvolvimento. A quimioterapia pode ser utilizada como terapia propriamente dita ou como adjuvante de outras formas de tratamento (RANG; DALE; RITTER, 2009).

Em 1865, Lissauer constatou atividade antitumoral do arsênico sistêmico contra leucemia crônica. Mais adiante, durante a I e a II Guerras Mundiais, observou-se a associação entre a exposição do gás mostarda, arma química muito utilizada nesta época, e o desenvolvimento de aplasia medular. Em virtude deste fato, a mostarda nitrogenada e seus derivados tornaram-se objeto de vários estudos. Em 1943, no Yale Câncer Center, os agentes alquilantes foram utilizados pela primeira vez em linfomas de Hodgkin e linfomas linfócitos. Em 1957, Heidelberger et al. sintetizaram o 5-fluorouracil (5-FU), quimioterápico muito utilizado até o presente momento. No final da década de 1950, os alcalóides da vinca, como a vinblastina e a vincristina, foram incorporados ao arsenal terapêutico. Da segunda metade do século XX até os dias de hoje, houve um grande progresso com a descoberta de novas drogas (IKEMORI *et al.*,2003). Os agentes antineoplásicos são, em sua maioria, antiproliferativos, pois danificam o DNA e, portanto, desencadeiam o processo de apoptose. Além disso, afetam rapidamente as células normais em rápida divisão e, por conseguinte, tendem a deprimir a medula óssea, a comprometer a cicatrização, deprimir o crescimento, causar esterilidade, queda dos cabelos e ser teratogênicos (RANG; DALE; RITTER, 2009).

Drogas antimetabólicas são antineoplásicos que apresentam forte semelhança estrutural com o ácido fólico e as bases purina e pirimidina envolvidas na síntese de DNA, RNA. Diferem, entretanto, no arranjo molecular do metabólito correspondente, em grau suficiente para atuarem como substratos falsos em reações bioquímicas, inibindo etapas de síntese ou incorporando-se em moléculas e interferindo na função ou replicação celular. Caracteristicamente, os antimetabólitos exercem seus principais efeitos durante a fase S (síntese de DNA) do ciclo celular. Portanto, interferem no crescimento das células de rápida proliferação em todo o

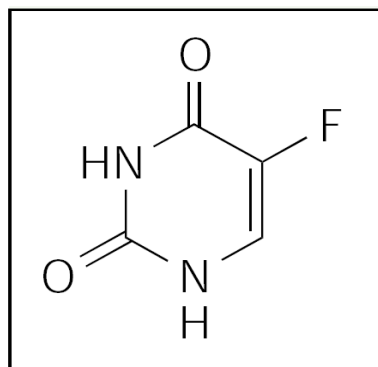
organismo como medula óssea, células germinativas, folículos pilosos e revestimento do trato gastrointestinal (KWOK; SCHUBERT, 2000). São divididos em três classes: os análogos do ácido fólico, os análogos da purina e os análogos da pirimidina.

### 1.1 5-Fluorouracil

O 5-Fluorouracil, análogo da pirimidina, foi selecionado para este estudo, sobretudo pelos efeitos colaterais causados nas células do trato-gastrointestinal e por ser utilizado no tratamento de vários tipos de câncer. É uma droga antimetabólica da classe das fluoropirimidinas e que foram desenvolvidas a partir da década de 50, com o objetivo de inibir processos essenciais para as células onde podemos citar a incorporação de moléculas de DNA e/ou RNA, processo essencial para síntese e metabolismo de novas células. (RUTMAN; CANTAROW; PASCHKIS, 1954). O mecanismo de citotoxicidade atribuído ao 5-FU está na sua capacidade de incorporar fluoronucleotídeo na molécula de DNA e/ou RNA bem como pela inibição da enzima timidilato sintase (TS), essa enzima é importante no processo de fornecimento de grupos timidilatos para o reparo e síntese de DNA (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003).

O 5-FU é um análogo da uracila adicionado a uma molécula de flúor na posição C-5 (FIGURA 1). No intracelular, é convertido em vários metabólitos: fluorodioxuridina monofosfato (FdUMP), fluorodioxuridina trifosfato (FdUTP) e fluorouridina trifosfato (FUTP). Esses são metabólitos ativos que interferem na síntese de RNA e na ação da TS. O catabolismo do 5-FU é determinado pela dihidropirimidina desidrogenase (DPD) que converte o 5-FU em dihidrofluorouracil (DHFU). Mais de 80% do 5-FU administrado é catabolizado no fígado onde a DPD é expressa de forma abundante. A TS catalisa a metilação da deoxiuridina monofosfato (dUMP) em deoxitimidina monofosfato (dTMP) com a utilização de um folato como doador metil. Esta reação fornece timidilato que é necessária para a replicação e o reparo do DNA. O FdUMP interage com a TS formando um complexo estável que bloqueia o substrato dUMP e inibe a síntese de deoxitimidina monofosfato (dTMP). A depleção da dTMP resulta em depleção da deoxitimidina trifosfato (dTTP) que leva as alterações em outros deoxinucleotídeos. As alterações

nos deoxinucleotídeos interrompem a síntese e o reparo do DNA, causando dano letal. Além disso, a inibição de TS resulta em acúmulo do dUMP, com aumento do dUTP. O dUTP e o FdUTP (metabólito do 5-FU) podem ser incorporados erroneamente ao DNA, o que impede o reparo da uracila através da excisão de nucleotídeo. Essas alterações levam à morte celular. O dano ao DNA causado pela incorporação errônea de dUTP é dependente dos níveis da pirofosfatase dUTPase, que limita o acúmulo intracelular de dUTP (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003).



**Figura 1-** Estrutura química do 5-Fluorouracil

Fonte: LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003

Assim como outros antimetabolitos, o 5-FU exerce suas ações sobre as células que se encontram na fase S do ciclo celular, o que contribui para reduzir seus efeitos colaterais, uma vez que a população de células, que não se encontram nessa fase, é poupada de suas ações (GREM, 2001). 5-FU é utilizado para o tratamento de vários tipos de câncer, incluindo o câncer de mama e o coloretal, sendo de maior impacto nesse último tipo. Seus efeitos adversos variam consideravelmente de acordo com o tratamento, dose utilizada e via de administração e são mais evidentes em células com grande índice de mitoses, como tecidos de rápida proliferação. Na medula óssea resulta em granulocitopenia e trombocitopenia, no trato gastrointestinal resulta em mucosite oral, mucosite intestinal, faringite, esofagite, gastrite, colite, entre outros (KOENIG; PATEL, 1970). Alopecia, dermatite, cardiotoxicidade e mais raramente, neurotoxicidade também são efeitos tóxicos observados na utilização do 5-FU (PIRZADA; ALI; DAFER, 2000).

## 1.2 Mucosite intestinal

A mucosite induzida por antineoplásicos é um fator limitante na terapia anticâncer. Mucosite é um termo clínico utilizado para caracterizar ulcerações da mucosa de todo o trato digestivo, e sintomas pertinentes (SONIS, 1993). A frequência da observação da mucosite varia e é influenciada pelo diagnóstico do paciente, idade, nível de saúde, tipo, dose e frequência da droga administrada (SONIS, 1997). Esse efeito colateral é bastante comum nos pacientes portadores de câncer submetidos a tratamento com agentes quimioterápicos diversos, em especial, os antimetabólitos, como por exemplo, o metotrexato e 5-fluorouracil, mas também com outros agentes como cisplatina, doxorubicina, ifosfamida, etc. Tem sido descrito incidência de mucosite de aproximadamente 40% associada ao uso de vários agentes quimioterápicos (CABALLERO; AUSMAN; QUEBBEMAN, 1985; BALIS *et al.*, 1985; ROTH *et al.*, 1991; MAGRATH *et al.*, 1984; BISHOP *et al.*, 1986), além de ser bastante comum em pacientes submetidos à radioterapia abdominal (ALTMANN, 1974). Vários estudos demonstram a incidência de mucosite como efeito colateral do 5-FU em aproximadamente 8 a 89 % dos casos de câncer retal (MINSKY *et al.*, 1993; LEVI *et al.*, 1994; ROSSO *et al.*, 1994), 15 a 40% dos indivíduos com câncer gástrico (LACAVE *et al.*, 1991; PYRHONEN, *et al.*, 1995).

O trato gastrointestinal é vulnerável por causa da alta proliferação e frequência de renovação celular (PARRILLI *et al.*, 1989; PLEDGER *et al.*, 1988). Sonis (1998) caracterizou quatro fases fisiopatológicas da mucosite: uma fase inflamatória/vascular, uma fase epitelial, uma fase bacteriológico-ulcerativa e uma fase de resolução. Cada fase é independente e é consequência de uma série de ações mediadas por citocinas, fatores de crescimento, sobre o efeito direto do quimioterápico no epitélio, sobre a flora bacteriana, além de depender do “status” da medula óssea do paciente (PICO *et al.*, 1998).

### 1.2.1 Papel das citocinas na mucosite intestinal

Na primeira fase há liberação de citocinas (interleucina 1 [IL-1 $\beta$ ]) do epitélio e dos tecidos conectivos devido ao efeito de quimioterápicos (SONIS, 1998). Citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e IL-1 $\beta$  podem iniciar uma

resposta inflamatória que resulta em aumento da vascularização sub epitelial (PICO *et al.*, 1998). A segunda fase, ou fase epitelial é caracterizada pela redução da renovação epitelial que resulta em atrofia. A fase ulcerativa é a mais sintomática e complexa, dentre as quatro fases, ocorre falha na barreira da mucosa, juntamente com neutropenia, que pode levar o paciente ao risco de infecção. E por último observa-se a fase de resolução da mucosite, com proliferação e diferenciação celular, retorno normal das células sanguíneas periféricas e controle da flora bacteriana (PICO *et al.*, 1998).

Citocinas podem induzir apoptose e têm contribuído para a disfunção de barreira presente nos processos inflamatórios intestinais (STRATER *et al.*, 1997). Citocinas inflamatórias, tais como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-2 e citocinas antiinflamatórias, tais como IL-1ra, TGF- $\beta$ , IL-4, IL-10 e IL-11 podem estar envolvidas na lesão e reparo da mucosa (WILSON; GIBSON, 1997). IL-1 $\beta$  possui influência marcante no desenvolvimento de lesões e na secreção intestinal por estimular a síntese de PGs (THEODOROU *et al.*, 1994) e IL-8 (SARTOR, 1994).

O TNF- $\alpha$ , uma importante citocina pró-inflamatória produzida principalmente por macrófagos e monócitos ativados, exerce um papel chave como mediador das respostas inflamatórias e imunes. Sua produção por fagócitos mononucleares é regulada por níveis intracelulares de cAMP e outras substâncias como as prostaglandinas E<sub>2</sub>, capazes de aumentar os níveis de cAMP, reduzem a liberação de TNF- $\alpha$  através de uma regulação negativa da expressão de seu gene (DOHERTY *et al.*, 1991; SCHMIDT-CHOUDHURY *et al.*, 1996). Estudos recentes relataram a habilidade da teofilina em suprimir a produção de TNF- $\alpha$  por macrófagos e monócitos por aumentar o acúmulo intracelular de cAMP (MARQUES *et al.*, 1999).

Muitos distúrbios estão frequentemente associados com uma elevação sérica dos níveis de TNF- $\alpha$ , e muitos procedimentos terapêuticos, como quimioterapia, irradiação e transplante de medula óssea, podem induzir a expressão de TNF- $\alpha$  (YANG; CHUEN; SHAIU, 1995). Citocinas como: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e TGF- $\beta$  também podem ser expressas no plexo mioentérico em ratos infectados por nematóides e serem responsáveis por alterações na motilidade (COLLINS, 1996). IL-6 pode ser produzida diretamente pelas células musculares lisas durante a inflamação intestinal (SCHWARZ *et al.*, 2004; WEHNER *et al.*, 2005).



### 1.2.2 Aspectos funcionais da mucosite intestinal

Pacientes sob terapia antineoplásica podem sofrer de outros sintomas, como dispepsia, disfagia e diarreia que não são controlados por drogas antieméticas (RIEZZO *et al.*, 2005). O conjunto desses sintomas foi denominado de síndrome dispéptica associado à quimioterapia do câncer (CADS). Recentemente, pesquisadores sugeriram que a causa dessa síndrome pode estar associadas às anormalidades da motilidade do trato gastrointestinal (RIEZZO *et al.*, 2001). Essas alterações da motilidade gastrointestinal podem ser provenientes de eventos inflamatórios. Sendo assim, podemos reforçar a hipótese de que as alterações funcionais advindas de processos inflamatórios e pós-inflamatórios podem estar relacionadas às alterações estruturais do músculo liso gastrointestinal e/ou alterações neuronais, principalmente do plexo mioentérico. Porém os possíveis mecanismos ainda não foram completamente elucidados.

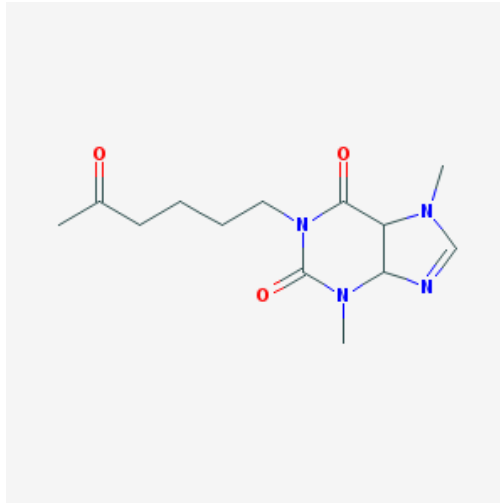
Apesar da maioria das pesquisas terem se direcionado à mucosite oral pela facilidade da observação das lesões e dos resultados de tratamentos, a mucosite intestinal destaca-se pelos seus importantes sinais e sintomas tais como náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia.

Recentemente, demonstramos que a mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos está relacionada a alterações motoras (retarde no esvaziamento gástrico e hipercontractilidade na musculatura lisa do estômago e duodeno) que ocorrem tanto na fase inflamatória, como na pós-inflamatória dessa patologia (Soares *et al.*, 2008).

### 1.3 Pentoxifilina (PTX)

É uma metilxantina que foi descrita inicialmente como agente hemorreológico (FIGURA 2), favorecendo a perfusão da microcirculação sanguínea de leitos periféricos e cerebrais, portanto, útil para terapia de diversas doenças vasculares (WARD; CLISSOLD, 1987). Possui efeito hemodinâmico primário devido a sua capacidade de reduzir a viscosidade do sangue e aumentar a deformidade dos eritrócitos. A redução da viscosidade do sangue e do plasma ocorre pela redução da agregação plaquetária e das concentrações plasmáticas de fibrinogênio, o que diminui o potencial de formação de trombos, melhorando a perfusão na circulação

microvascular. A PTX exerce estes efeitos farmacológicos por inibir a fosfodiesterase, aumentando desta forma as concentrações intracelulares de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), bem como por reduzir a síntese do TXA<sub>2</sub> e aumentar a síntese de PGI<sub>2</sub>. Já o aumento da deformidade dos eritrócitos envolve aumento do trifosfato de adenosina (ATP) e nucleotídeos nos eritrócitos (WARD; CLISSOLD, 1987).



**FIGURA 2-** Estrutura química da Pentoxifilina.

Fonte: **PubChem Compound**; Palavra-chave: Pentoxifylline; Selecionar: [16219830](#); [Nov.2006]

A PTX é bastante utilizada em doenças oclusivas arteriais periféricas e distúrbios de natureza aterosclerótica ou diabética, como claudicação intermitente e úlceras nas pernas e gangrena, alterações circulatórias cerebrais, estados isquêmicos e pós apopléticos (WARD; CLISSOLD, 1987; BOMBINI *et al.*, 2004).

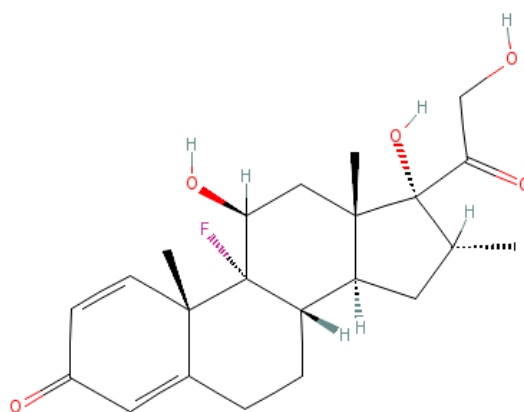
Pesquisas mostram que os novos usos da PTX se relacionam ao seu efeito antiinflamatório, por afetar a aderência de neutrófilos, a produção de citocinas (GÓMEZ-CAMBRONERO *et al.*, 2000; CARNEIRO FILHO *et al.*, 2004; ABDEL-SALAM *et al.*, 2003; BOMBINI *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2005), óxido nítrico (BESHAY *et al.*, 2001) e a molécula de adesão intercelular (ICAM-1) (FUNK *et al.*, 1995). Assim, a PTX e seus metabólitos modulam a adesão de leucócitos polimorfonucleares (PMN), a produção de superóxidos e a degranulação (SULLIVAN *et al.*, 1988). Devido ao seu potencial imunomodulador, a PTX tem sido alvo de pesquisas para o tratamento de doenças inflamatórias (GÓMEZ-

CAMBRONERO *et al.*, 2000; CARNEIRO FILHO *et al.*, 2004), da perda de peso dos pacientes com câncer (MATTOX, 2005) e câncer (MISIRLIOGLU *et al.*, 2006).

Vários estudos têm comprovado que a PTX reduz os níveis de TNF- $\alpha$  (SULLIVAN *et al.*, 1988; STRIETER *et al.*, 1988; NEUNER *et al.*, 1994; FUNK *et al.*, 1995; HUIZINGA *et al.*, 1996; SCHMIDT-CHOUDHURY *et al.*, 1996; VAN FURTH *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2000; MARCINKIEWICZ *et al.*, 2000; HADDAD *et al.*, 2002; JI *et al.*, 2004), por inibir a transcrição gênica (DOHERTY *et al.*, 1991) pelo aumento da geração intracelular de cAMP (STRIETER *et al.*, 1988; MARCINKIEWICZ *et al.*, 2000).

#### 1.4 Dexametasona (DEXA)

A dexametasona (DEXA) é um glicocorticóide, análogo sintético da hidrocortisona (FIGURA 3), cujo principal efeito farmacológico decorre de sua ação antiinflamatória e imunossupressora. É um agente que pode ser administrado por diversas vias, sendo em sua maioria administrados por via oral. Uma vez absorvidos, os glicocorticóides se ligam à globulina ligadora de corticosteróide (GLC) e penetram nas células por difusão simples. A metabolização ocorre no fígado (RANG; DALE; RITTER, 2009).



**FIGURA 3-** Estrutura química da Dexametasona

Fonte: **PubChem Compound**; Palavra-chave: Dexamethasone;  
Selecionar: [5743](#); [Nov.2006]

Inúmeros mecanismos estão envolvidos na supressão da inflamação pelos glicocorticóides. Atualmente está claro que os glicocorticóides, através de múltiplas células, são capazes de inibir a produção de fatores que são críticos na geração da resposta inflamatória. Como consequência, ocorre uma redução na liberação de fatores vasoativos e quimiotáticos, secreção reduzida de enzimas lipolíticas e proteolíticas, menor extravasamento de leucócitos para as áreas de lesão e, por fim, fibrose diminuída (SCHIMMER; PARKER, 1996).

Algumas das ações antiinflamatórias dos corticosteróides podem resultar dos seus efeitos inibitórios sobre a síntese de prostaglandinas. Esse efeito também é medido pela síntese de proteínas, visto que os corticosteróides induzem a síntese de transcortina e macrocortina – proteínas que inibem a síntese de prostaglandinas através da inibição da fosfolipase A<sub>2</sub>. As respostas mediadas por células podem ser inibidas indiretamente pela inibição da produção de determinadas citocinas, incluindo o TNF- $\alpha$  e outras interleucinas (OSWALD; GUIMARÃES, 2001; GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2002).

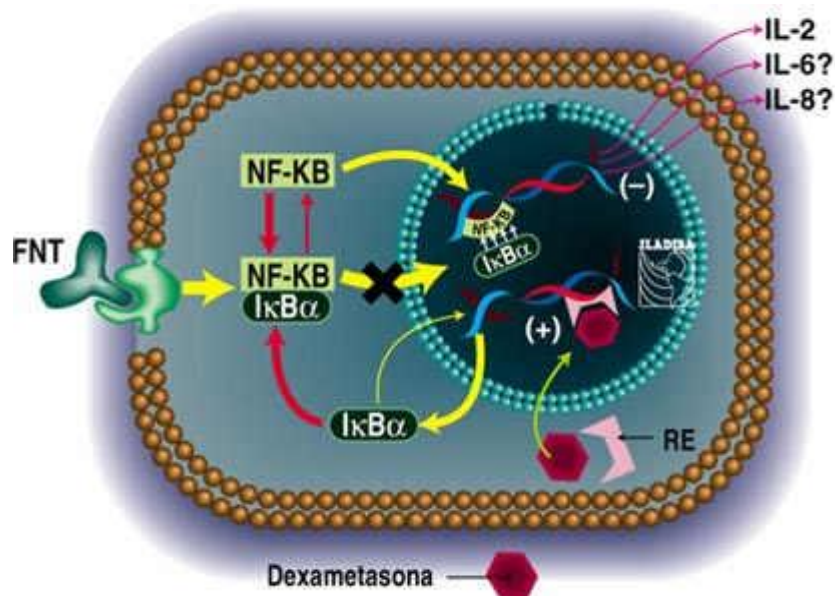
A indução da síntese de lipocortinas, proteínas pertencentes à superfamília de proteínas dependentes de cálcio, as anexinas, tem sido sugerido como principal mecanismo pelo qual os glicocorticóides, como a dexametasona, desempenham a sua atividade antiinflamatória (FLOWER, 2006; PEERS *et al.*, 1993). Essas proteínas possuem atividade anti-fosfolipase A<sub>2</sub>, reduzindo assim, a biossíntese de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos) e PAF (FLOWER, 2006).

Os glicocorticóides também exercem importantes ações sobre as respostas imunológicas específicas do hospedeiro, pelo menos parcialmente, através de seus profundos efeitos sobre a produção de citocinas (SCHIMMER; PARKER, 1996). A dexametasona possui efeito inibitório sobre a síntese de citocinas, tais como a IL-1 $\beta$ , IL-8, e TNF- $\alpha$ , devendo ser destacado que, além de inibir sua produção, também bloqueia vários dos seus efeitos, como é o caso da redução da expressão de receptores para IL-8 (BARNES; ADCOCK, 1993).

Considerando os glicocorticóides como importantes agentes antiinflamatórios, cujos efeitos são parcialmente devidos à atenuação da produção de citocinas pró-inflamatórias (BLEEKER *et al.*, 1997), é importante ressaltar que as ações imunossupressoras e antiinflamatórias dos glicocorticóides estão

indissolúvelmente ligadas, talvez porque ambas resulta, em grande parte, da inibição de funções específicas dos leucócitos (BOUMPAS,1993).

Por estas razões, os glicocorticóides têm representado importante e muitas vezes decisivo instrumento terapêutico no manejo de várias patologias. Sabe-se, no entanto, que o seu uso prolongado é limitado por importantes efeitos adversos. Estes incluem supressão adrenal, alterações dos fâneros, ossos e tecido conjuntivo e, em crianças, diminuição da velocidade de crescimento (PEDESSEN; O`BYRNE, 1997), dentre outros. A terapêutica prolongada com doses supra-fisiológicas pode ter conseqüências tóxicas, sendo um dos mecanismos de toxicidade a desregulação da transcrição. Os glicocorticóides alteram a ativação dos fatores de transcrição (TFs), por mimetização dos ligantes endógenos ou por alteração do sinal de ativação, induzindo a apoptose de células linfóides. O NF- $\kappa$ B atua como fator de transcrição, tendo um papel importante na inflamação e nas reações de fase aguda. O NF- $\kappa$ B também protege as células da apoptose por manter a transcrição do c-Myc, o qual é necessário para a sobrevivência das células e permite a ativação de genes anti-apoptóticos. O I $\kappa$ B $\alpha$  liga-se ao NF- $\kappa$ B, inibindo a sua transferência para o núcleo e a sua função como fator de transcrição. Os glicocorticóides atuam por aumento na síntese de I $\kappa$ B, diminuindo a ativação do NF- $\kappa$ B e a expressão do c-Myc. Este mecanismo de alteração do sinal de ativação, executado pelos glicocorticóides, contribui para o efeito apoptótico das células linfóides (FIGURA 4) (KLASSEN *et al.*, 2001).



**FIGURA 4-** Mecanismo de ação da Dexametasona  
 Fonte; KLASSEN *et al.*, 2001

## 1.5 Mucosite por antineoplásicos e a contribuição do lafca

Nosso grupo de pesquisa vem há vários anos dedicando-se ao estudo dos mecanismos e mediadores envolvidos nos efeitos colaterais da quimioterapia do câncer, como a mucosite intestinal. Nesse contexto, desde 2004 temos sugerido que o TNF- $\alpha$  teria um importante papel na fisiopatologia da mucosite oral por 5-FU. Em modelos de mucosite por 5-FU em Hamster, demonstramos que a PTX e a talidomida foram capazes de inibir a lesão macroscópica e microscópica, bem como o aumento da atividade de MPO, observada nos animais tratados com 5-FU (LIMA *et al.*, 2005). De forma inédita, demonstramos o papel relevante do óxido nítrico na gênese da mucosite oral por 5-FU através da observação de que inibidores seletivos da iNOS (1400W e aminoguanidina) reduziram a lesão macroscópica e microscópica, bem como a infiltração de neutrófilos medida pela atividade de MPO na bochecha de hamster com mucosite oral por 5-FU, além de se demonstrar a expressão da iNOS por imunohistoquímica e western blot (LEITÃO *et al.*, 2007).

Em relação à mucosite intestinal por antineoplásicos, demonstramos que o tratamento com metotrexato em ratos induz uma importante atrofia de vilos com aumento das criptas, no duodeno, jejuno e íleo. Observamos ainda, que o metotrexate foi capaz de aumentar a secreção de sódio e potássio medido pela modelo de perfusão intestinal, bem como reduziu a área absorptiva medida pela razão de excreção do manitol (CARNEIRO FILHO *et al.*, 2004). Mais recentemente, observamos que o tratamento com irinotecano (CPT11) em camundongos causou uma significativa diarreia nos animais, com diminuição dos vilos intestinais e perda da arquitetura das criptas. Observamos ainda um aumento na concentração intestinal de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e KC. Demonstramos também que a mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos está associada a alterações na motilidade digestiva que persistem mesmo com a resolução do processo inflamatório (SOARES *et al.*, 2008).

Este estudo, portanto, dá continuidade à nossa pesquisa sobre a fisiopatologia da mucosite experimental por antineoplásicos e espera contribuir para o esclarecimento da patogênese dessa condição inflamatória, definindo o efeito da PTX e da DEXA nesta condição clínica.

***OBJETIVOS***

---

---

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito do tratamento com pentoxifilina ou dexametasona na resposta inflamatória e nas alterações da motilidade digestiva associadas a mucosite intestinal experimental induzida por 5-FU.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Estudar a resposta inflamatória (histologia, dosagem de MPO e GSH), o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal no curso da mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos,
- Avaliar o papel de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  na fisiopatologia dos eventos inflamatórios da mucosite intestinal experimental induzida por 5-FU.
- Estudar o efeito do tratamento com pentoxifilina ou dexametasona nos achados inflamatórios (histologia, MPO e GSH) e funcionais (esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal) presentes na mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos;



## ***MATERIAIS E MÉTODOS***

---

---

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos, com peso variando entre 180 a 250g, procedentes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC, todos receberam ração balanceada e água em quantidades controladas, e permaneceram nas mesmas condições durante os demais dias experimentais.

Os protocolos experimentais estão de acordo com os padrões de uso de animais experimentais e estes foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará (62/07).

#### 3.2 Fármacos e diluentes

Fármacos	Origem
Salina (NaCl 0,9%)	Fresenius, Brasil
Pentoxifilina (Trental ®)	Aventis , Brasil
Dexametasona (Decadron ®)	Aché, Brasil
5-Fluorouracil (5-FU)	Eurofarma

#### 3.3 Modelo de mucosite intestinal induzida por 5-FU e tratamento com Pentoxifilina e Dexametasona.

Os ratos (n= 6-8, por grupo) foram tratados com uma dose única de 150 mg/kg de 5-FU (i.p.) e após 30 min começaram os tratamentos com salina (controle positivo), Pentoxifilina 90mg/kg (i.p.) ou Dexametasona 2,5 mg/kg (subcutâneo), diariamente por 3 dias (LIMA *et al.*, 2005). Os animais controle negativo receberam somente com salina. No 4º dia experimental, os animais foram anestesiados com éter e amostras de sangue periférico foram coletadas da cauda, de todos os animais, para determinação da contagem total de leucócitos plasmáticos.

Posteriormente, os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical, e fragmentos de duodeno, jejuno e íleo foram retirados para análise histológica e imunohistoquímica para TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  (duodeno). Em seguida, segmentos do intestino delgado foram retirados e congelados no freezer -70°C para posterior dosagem da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), da concentração de grupos sulfidrílicos (GSH) e das citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  (duodeno). (SOARES *et al.*, 2008).

### **3.4 Leucograma**

O número total de leucócitos plasmáticos foi determinado depois da diluição com solução de Turk (Ácido acético 2%, Violeta Genciana 0,2%). A contagem dos leucócitos plasmáticos foi realizada com o auxílio da câmara de Neubauer juntamente com o uso de microscópio ótico (100X). Os resultados foram expressos como número total de leucócitos contados nos 4 campos da câmara de Neubauer e posteriormente multiplicados pelo fator de correção da câmara. Por fim, os valores foram expressos como n<sup>o</sup>células/mm<sup>3</sup> (SOARES *et al.*, 2008).

### **3.5 Análise morfométrica e histopatológica**

Os segmentos obtidos do duodeno, jejuno e íleo, foram fixados em formol a 10%. Decorridas 24 horas, os fragmentos foram retirados do formol e colocados em álcool 70% e posteriormente parafinizados. A seguir, foram realizados cortes histológicos de 5  $\mu$ m de espessura e fixados em hematoxilina e eosina. Posteriormente, com o auxílio de um microscópio ótico acoplado ao sistema de aquisição de imagens (LEICA), foram medidas as alturas de 10 vilos e as profundidades de 10 criptas de cada lâmina para cálculo da razão vilo/cripta. Em seguida, utilizando o sistema de escores de Macpherson e Pfeiffer (1978), um histopatologista (GAC Brito) que não conhecia os tratamentos realizados analisou todas as lâminas (TABELA 1).

**TABELA 1-** Sistema de escores de Macpherson e Pfeiffer

<b>Escores</b>	<b>Achados Microscópicos</b>
<b>0</b>	Achados histológicos Normais.
<b>1</b>	<b>Mucosa:</b> vilos encurtados, perda da arquitetura das criptas, infiltrado de células inflamatórias, vacuolização e edema. <b>Muscular:</b> normal.
<b>2</b>	<b>Mucosa:</b> vilos encurtados com células vacuolizadas, Necrose das criptas, intenso infiltrado de células inflamatórias, vacuolização e edema. <b>Muscular:</b> Normal.
<b>3</b>	<b>Mucosa:</b> vilos encurtados com células vacuolizadas, necrose das criptas, intenso infiltrado inflamatório, vacuolização e edema. <b>Muscular:</b> edema, vacuolização, infiltrado neutrofílico.

### 3.6 Ensaio para mieloperoxidase (MPO)

Mieloperoxidase (MPO) é uma enzima presente predominantemente nos grânulos azurófilos dos neutrófilos e tem sido utilizada como um marcador quantitativo da infiltração de neutrófilos nos processos inflamatórios em vários tecidos, entre eles o trato gastrointestinal. Resumidamente, 50 a 100 mg dos segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) foram colocados num tampão de potássio com 0,5% de brometo de hexadecitrimetilamônio (pH 6,0; 50 mg de tecido por ml) e posteriormente homogeneizados em um macerador de tecidos (Politron®). A seguir, o homegenato foi centrifugado a 14000 rpm por 2 minutos. A atividade da MPO por mg de tecido foi aferida através da técnica descrita utilizando 0,0005% de peróxido de nitrogênio como substrato para a MPO. A unidade da atividade de MPO foi definida como aquela capaz de converter 1 mmol de peróxido de nitrogênio em água em 1 minuto (BRADLEY; CHRISTENSEN; ROTHSTEIN, 1982).

### **3.7 Determinação de Glutathiona (GSH)**

A concentração de GSH nos segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) foi avaliada utilizando o ensaio para determinação de grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH) (SEDLAK; LINDSAY, 1968). As amostras obtidas dos segmentos intestinais (100mg/ml) foram homogeneizadas em 0,02 M EDTA. Alíquotas de 400  $\mu$ l do homogenato foram misturadas com 320  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O destilada e 80  $\mu$ l de ácido tricloroacético a 50% para precipitação das proteínas. Depois dessa etapa o material foi centrifugado por 15 min em rotação de 3,000 g à uma temperatura de 4°C. Em seguida, novas alíquotas de 400  $\mu$ l do sobrenadante foram misturadas com 800  $\mu$ l de tampão TRIS com concentração de 0.4 M, pH 8.9 e com 20  $\mu$ l 5,5-dithiobis-2-nitro-benzoic acid (DTNB, Fluka) e agitadas por 3 min. A absorbância foi então determinada a 412 nm contra um reagente branco (sem o homogenato). A concentração de GSH foi expressa por  $\mu$ g/mg de tecido a partir de uma curva padrão (SEDLAK; LINDSAY, 1968) .

### **3.8 Dosagem de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ .**

A concentração de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , foi determinada apenas nos fragmentos do duodeno congelados no freezer -70°C. Estes foram homogeneizados em solução tampão de com proteases e o sobrenadante foi coletado para dosagem de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ . A detecção das concentrações dessas citocinas foi realizada por ELISA espécie- específico, conforme orientação do fabricante (R&D system), Os resultados foram expressos em pg/ml a partir de uma curva padrão fornecida pelo fabricante.

### **3.9 Imunohistoquímica para TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$**

Foram realizadas a imunohistoquímica para TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  somente nas amostras dos duodenos que foram retiradas e fixadas em formol tamponado a 10%. Decorridas 24horas, os fragmentos foram retirados do formol e colocados em álcool

70% e posteriormente parafinizados. A seguir, foram realizados cortes histológicos de 3 a 4 µm de espessura e as lâminas foram colocadas em estufa a 60°C por 15 min. Após a desparafinização do tecido, seguida de hidratação, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% diluída em metanol. Posteriormente, foi realizada a lavagem das lâminas com PBS 0,01M (5min.). As lâminas foram então mergulhadas numa solução de PBS com albumina bovina (BSA) a 1%, durante 30min. Em seguida, as lâminas foram incubadas com o anticorpo primário para detecção de TNF-α, IL-1β (Santa Cruz), na diluição de 1:100 em PBS-BSA 1%, em temperatura de 4 °C, durante uma noite. Posteriormente, as lâminas foram lavadas três vezes em PBS-BSA 1% e incubadas com o anticorpo secundário marcado com biotina (LSAB®, Dako), na diluição de 1:100, por 1 hora, à temperatura ambiente. Após a remoção do excesso de anticorpo, foi incubado com o complexo streptavidina-biotina-peroxidase (System- HRP, Dako) diluído em PBS, por 35 minutos, à temperatura ambiente. Após a lavagem com PBS, a reação foi revelada utilizando diamina-benzina-peróxido (Dako) de hidrogênio em PBS, à temperatura ambiente, por 5 min., no escuro. Após controle da intensidade, a reação foi interrompida pela lavagem com água corrente por 5 min. A contra-coloração foi feita com hematoxilina de Mayer, por 45 segundos, sendo o excesso retirado com água corrente. Posteriormente, as lâminas foram colocadas em hidróxido de amônia a 0,5%, por 10 segundos e lavadas novamente em água destilada. Finalmente, as mesmas foram submetidas à desidratação com álcool 95%, álcool absoluto, xilóis e montadas com lamínulas em Entellan (RIBEIRO *et al.*, 2002).

### **3.10 Esvaziamento gástrico e transito gastrintestinal na mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos.**

Inicialmente, ratos (n= 6-8 por grupo) receberam dose única de 150 mg/kg de 5-FU (i.p.) ou salina. Do 3º para o 4º dia experimental, foram mantidos em jejum por 16-18 horas, mas com livre acesso a água até momentos antes do início do experimento. Cada animal recebeu, por gavagem, 1,5 ml da solução glicosada (5%) contendo vermelho de fenol a 0,75 mg/ml, com um intervalo de tempo de 5 minutos de um animal para o outro. Após 10, 20 ou 30 minutos da administração do corante, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e submetidos a uma

laparotomia mediana. Para tanto, foi aberto o abdômen por uma incisão mediana na parede abdominal com cerca de 4,0 cm desde o apêndice xifóide. A seguir as junções esôfago- gástrica, gastroduodenal e íleo- cólica foram rapidamente clampadas e o estômago e o intestino delgado foram retirados, estendido e divididos em quatro segmentos consecutivos: Estômago, Intestino proximal (40%), medial (30%) e distal (30%). Com o auxílio de uma proveta contendo uma solução de NaOH (100ml, 0,1N) os volumes de cada segmentos foram determinados. Depois de medir o volume, os segmentos foram homogeneizados numa solução de NaOH 0,1N com o auxílio de um Misturador (Arno), depois, foram retirados 10 ml de cada amostra e levado para centrifugação por 10 min e 2800 rpm. Foram retirados 5 ml do sobrenadante e a este adicionado ácido tricloroacético (TCA) (20% peso/volume) e centrifugado novamente por 20 min com a finalidade de obter a precipitação de proteínas. Por fim, uma placa de 96 poços foi montada com 150 µl da amostra e 200µl de NaOH (0,5 N), a placa foi lida numa leitora de ELISA sob um comprimento de onda de 540 nm. Uma curva padrão foi obtida em cada experimento com a partir de uma concentração conhecida de vermelho fenol após a adição da solução de NaOH (0,5 N). O coeficiente linear da curva padrão foi estabelecido e utilizado para determinação da concentração do corante (C) da solução e em seguida foi calculado a quantidade de vermelho fenol recuperada em cada segmento.

A retenção gástrica do vermelho fenol foi expressa em porcentagem, de acordo com a seguinte fórmula: Retenção gástrica= Quantidade de vermelho fenol recuperada do estômago/ Quantidade total de vermelho fenol recuperada em todos os quatro segmentos (estômago, intestino proximal, intestino medial e intestino distal).

O trânsito gastrintestinal da refeição foi estimado de acordo com o método do centro geométrico (MILLER; GALLIGAN; BURKS, 1981). De acordo com este princípio, obtivemos o produto da retenção fracional de cada segmento (estômago, intestino proximal, intestino medial, intestino distal) pelo dígito identificador de cada segmento: (1, 2, 3, 4, respectivamente). A somatória desses valores indica o centro geométrico da refeição com corante propelida ao longo do intestino, aos moldes do centro de massa dos objetos (Transito gastrintestinal= 1 x Estômago+ 2 X Proximal+ 3 X Medial + 4 X Distal).

### **3.11 Efeito do tratamento com Pentoxifilina e Dexametasona no retardo do esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal observado na mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos.**

Os ratos (n= 6-8 por grupo) foram tratados com dose única de 150 mg/kg de 5-FU (i.p.) e após 30 min começaram os tratamentos com salina (controle positivo), Pentoxifilina 90mg/kg (i.p.) ou Dexametasona 2,5 mg/kg (subcutâneo), diariamente por 3 dias. Os animais controle negativo foram tratados somente com salina. No 4<sup>o</sup> dia experimental, o esvaziamento gástrico e o transito intestinal foram avaliados conforme descrito no item anterior.

### **3.12 Análise estatística**

Os dados estão expressos como média  $\pm$  EPM (variáveis com distribuição normal) ou como mediana  $\pm$  mínimo e máximo (variáveis sem distribuição normal). A análise estatística foi feita usando o teste de análise de variância ANOVA seguido do teste de Bonferroni quando apropriado. Os escores histológicos foram avaliados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de múltiplas comparações de Dunns. Significância estatística foi observada quando  $p < 0,05$ . Para realização dos testes estatísticos foi utilizado o software Prism versão 4 da GraphPad Software.



## ***RESULTADOS***

---

---

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Efeito do tratamento com PTX ou DEXA sobre a leucopenia induzida por 5-FU em ratos

5-FU induziu uma significativa leucopenia, quando comparado aos animais controle (salina). Os tratamentos com PTX ou DEXA não modificaram a leucopenia causada pelo 5-FU (TABELA 2).

**TABELA 2 – PTX ou DEXA não alteraram a leucopenia induzida por 5-FU.**

Grupos Experimentais (n=8)	nº células/mm <sup>3</sup>
Salina (controle)	11110,00 ± 1224,00
5-FU	2914,00 ± 466,30*
5-FU + PTX	3543,00 ± 369,20*
5-FU + DEXA	5366,00 ± 772,20*

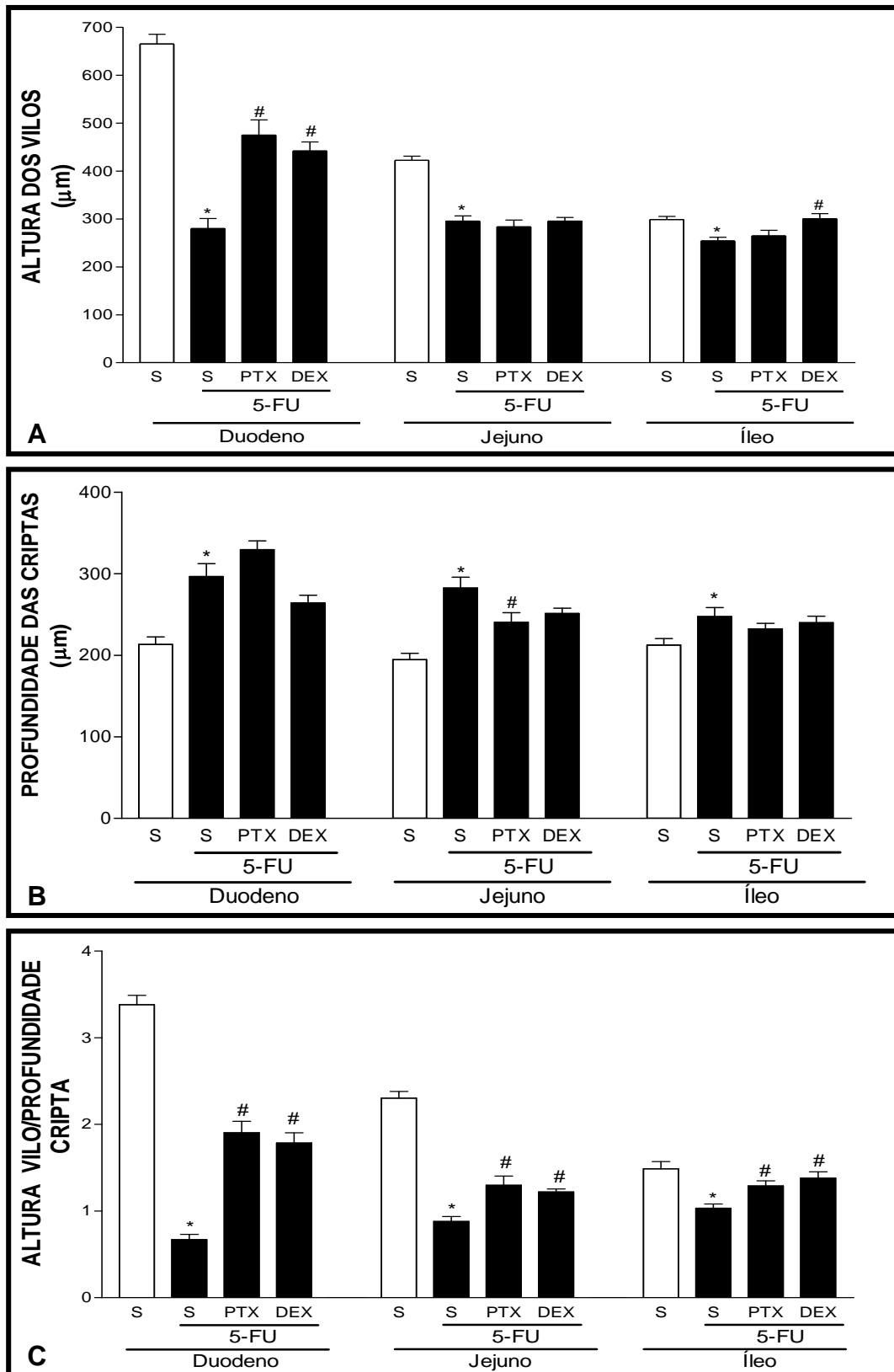
Os valores representam a media ± E.P.M. \*p<0,05 quando comparado ao grupo controle.

### 4.2 PTX e DEXA reduziram as alterações intestinais morfométricas induzida por 5-FU em ratos

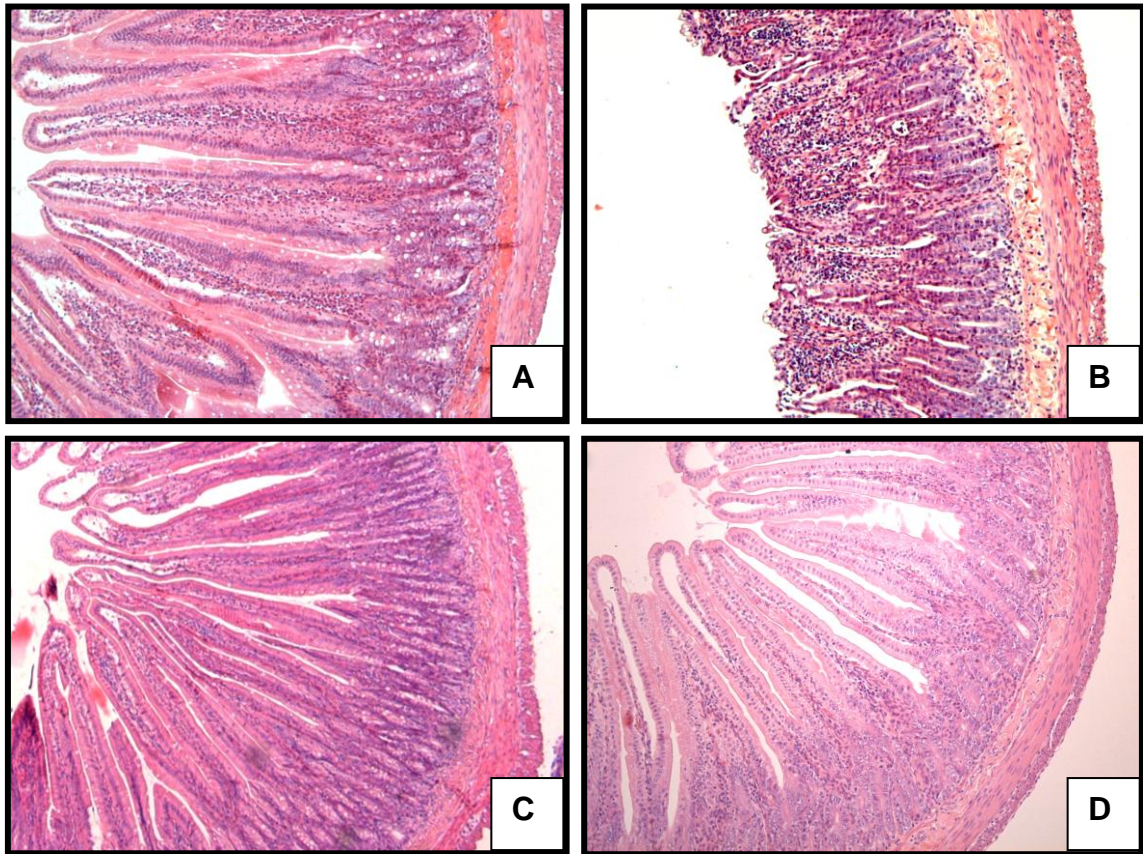
5-FU induziu uma significativa diminuição na altura dos vilos (FIGURA 5A), um aumento na profundidade das criptas (FIGURA 5B) e uma diminuição na relação vilo-cripta (FIGURA 5C), no duodeno, jejuno e íleo, quando comparado ao grupo controle (salina). Em relação à altura dos vilos, o tratamento com PTX reverteu o efeito do 5-FU no duodeno, mas não no jejuno e íleo. Por outro lado, DEXA apresentou um aumento da altura dos vilos no duodeno e no íleo quando comparado com o grupo que recebeu somente 5-FU (FIGURA 5A). No painel B da figura 5, observamos que somente o tratamento com PTX, mas não com DEXA, reverteu parcialmente o aumento das profundidades das criptas induzido por 5-FU no jejuno, mas não no duodeno e íleo (FIGURA 5B). A respeito da relação vilo/cripta, observamos que os tratamentos com PTX ou com DEXA reverteram significativamente a diminuição desta relação induzida pelo 5-FU (FIGURA 5C).

#### **4.3. Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos.**

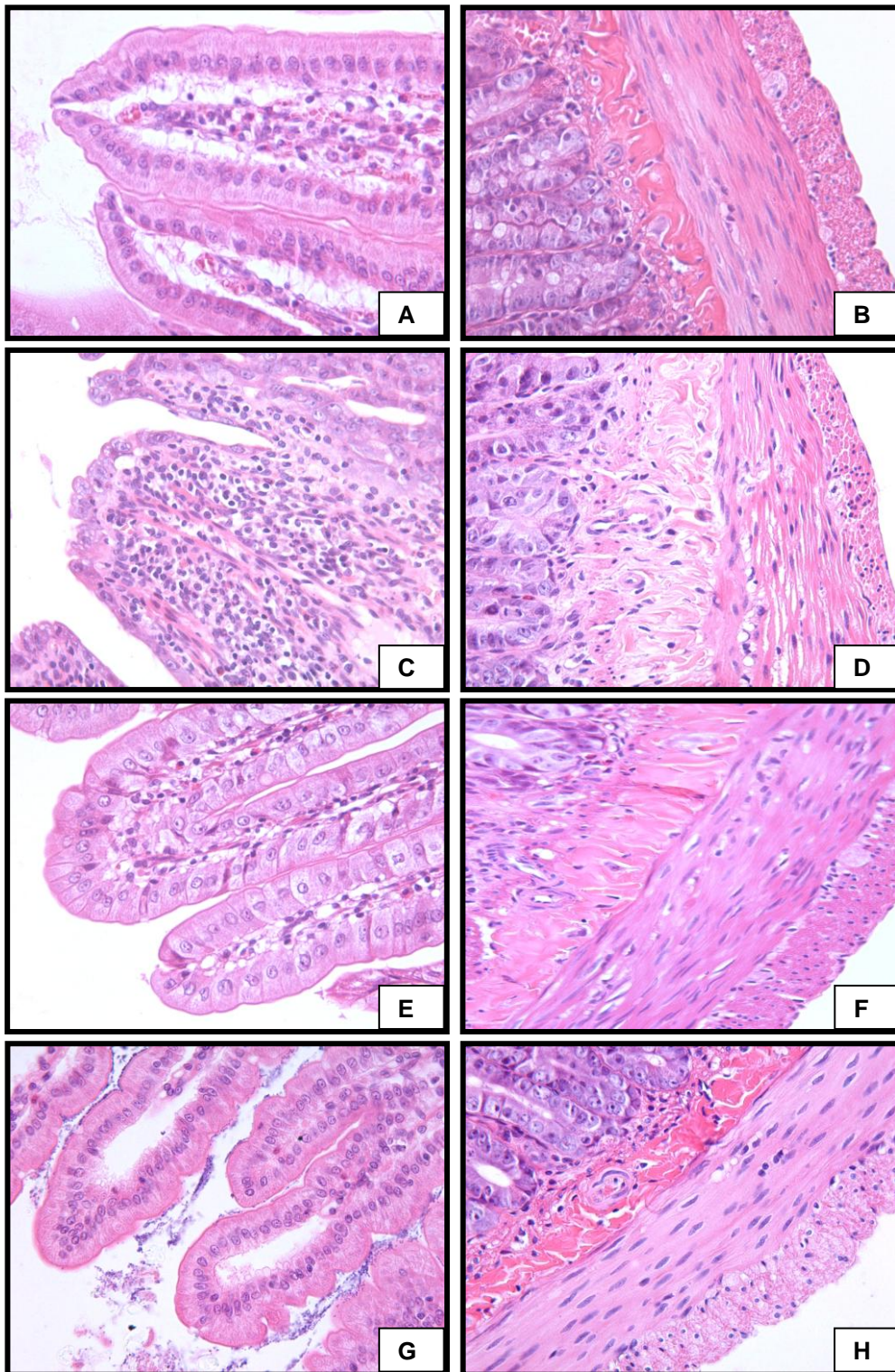
Nas fotomicrografias (100x), observamos que os tratamentos com PTX ou DEXA reverteram o encurtamento dos vilos e aprofundamento das criptas induzido por 5- FU, no duodeno (FIGURA 6), jejuno (FIGURA 8) e íleo (FIGURA 10). Observa-se ainda, que no aumento de 400 X, o intenso infiltrado inflamatório, vacuolização e edema na mucosa e na muscular observados, no duodeno (FIGURA 7), jejuno (FIGURA 9) e íleo (FIGURA 11), com o tratamento com 5- FU foram também revertidos pela PTX ou pela DEXA.



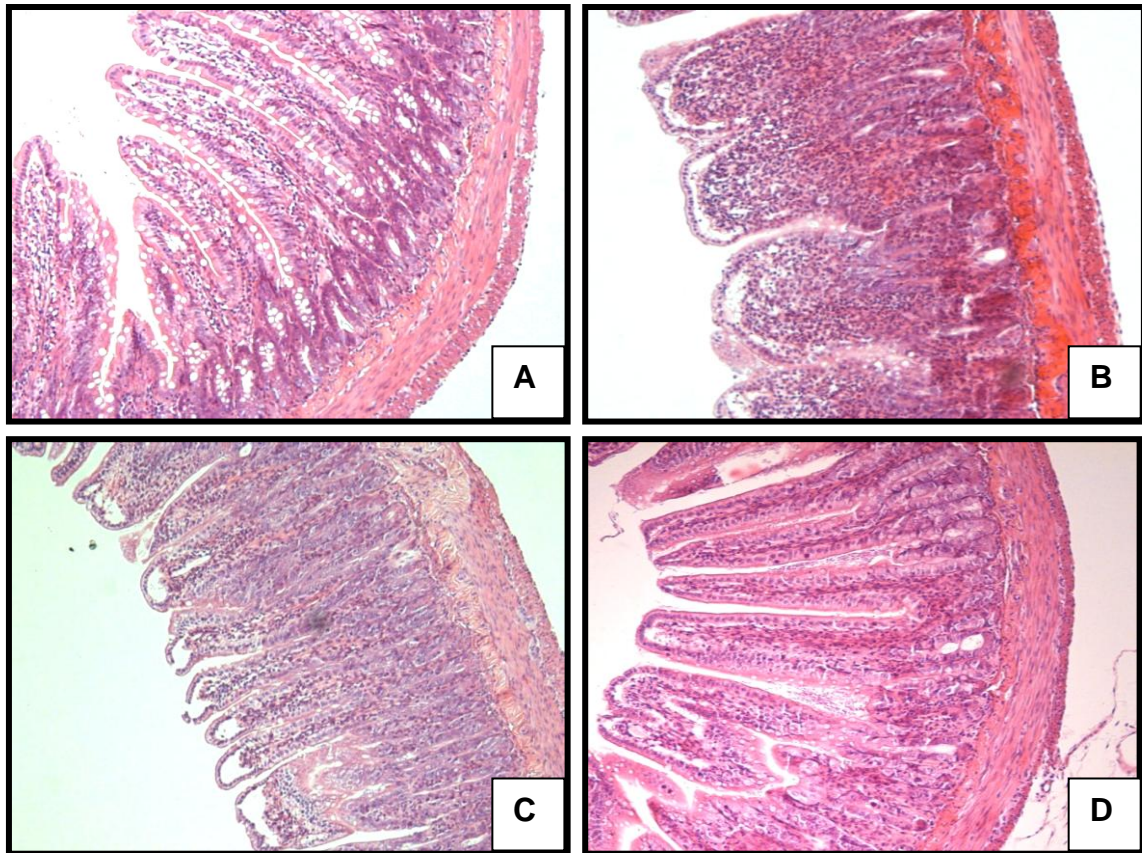
**FIGURA 5- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações morfológicas nos segmentos intestinais induzidas por 5-FU em ratos.** Animais foram pré-tratados com salina (S) ou 5-FU e receberam durante três dias consecutivos doses i.p. de PTX, subcutânea de DEXA ou salina (S), sendo sacrificados no quarto dia experimental. Segmentos de duodeno, jejuno e íleo foram obtidos para medida da altura dos vilos (painel A), profundidade das criptas (painel B) e razão vilos/cripta (painel C). Os valores foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo salina (S), #  $p < 0,05$  comparados com o grupo 5-FU + salina, pelo teste ANOVA seguido de Bonferroni.



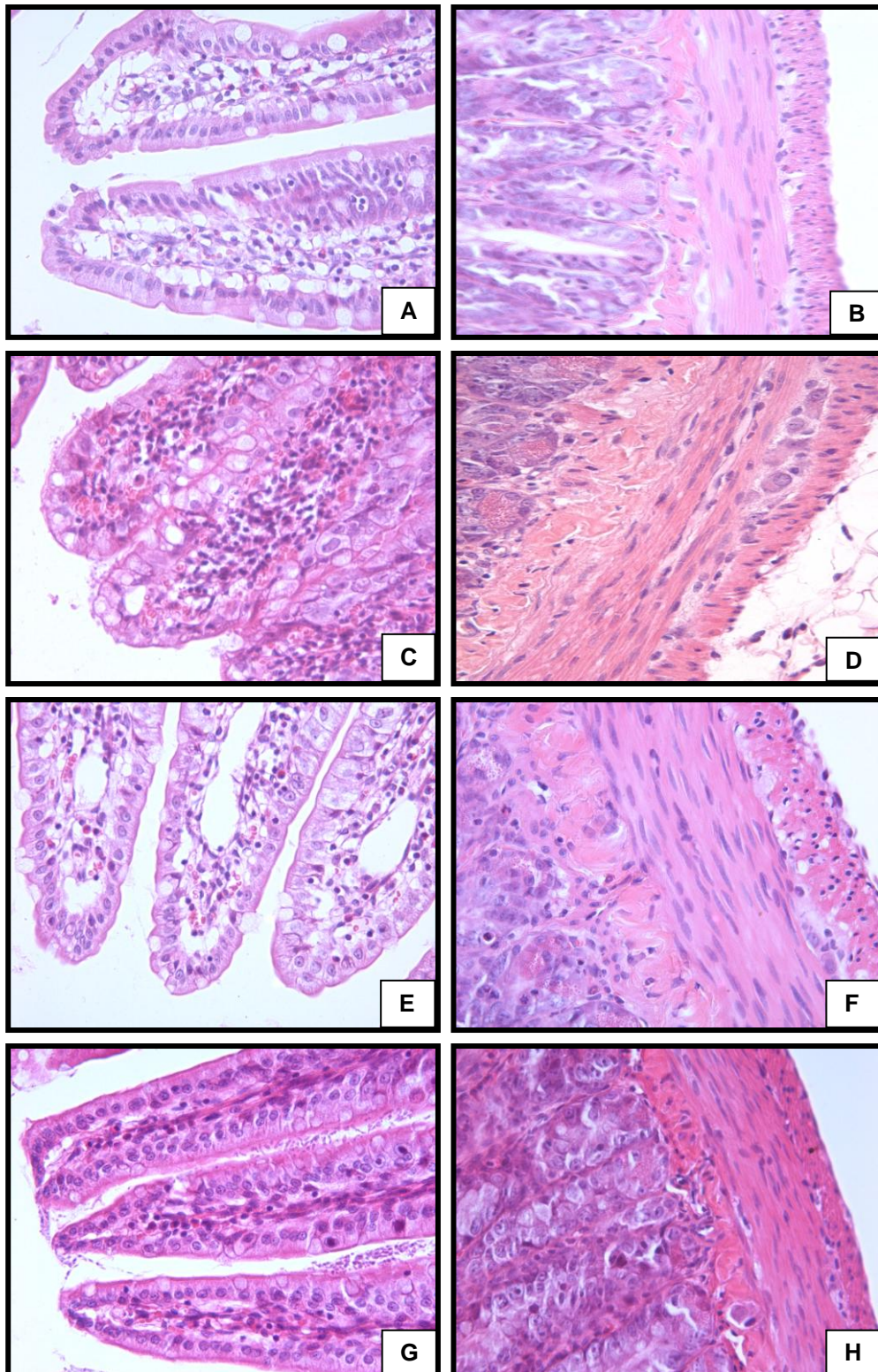
**FIGURA 6- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no duodeno induzidas por 5- FU em ratos.** Fotomicrografias (100X) do duodeno de ratos tratados salina (A), 5-FU + salina (B), 5-FU + PTX (C), ou 5-FU + DEXA (D) durante três dias e sacrificados no quarto dia. Observa-se que os tratamentos com PTX (C) ou DEXA (B) preveniram o encurtamento dos vilos e aprofundamento das criptas (B) induzido por 5- FU (B).



**FIGURA 7- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no duodeno induzidas por 5- FU em ratos.** Fotomicrografias (400X) do duodeno de ratos tratados salina (A, B), 5-FU + salina (C, D), 5-FU + PTX (E, F), ou 5-FU + DEXA (G, H) durante três dias e sacrificados no quarto dia. Observa-se que o tratamento com PTX (E, F) ou DEXA (G, H) preveniram o intenso infiltrado inflamatório, vacuolização e edema na mucosa e na muscular induzidos por 5- FU (C, D).

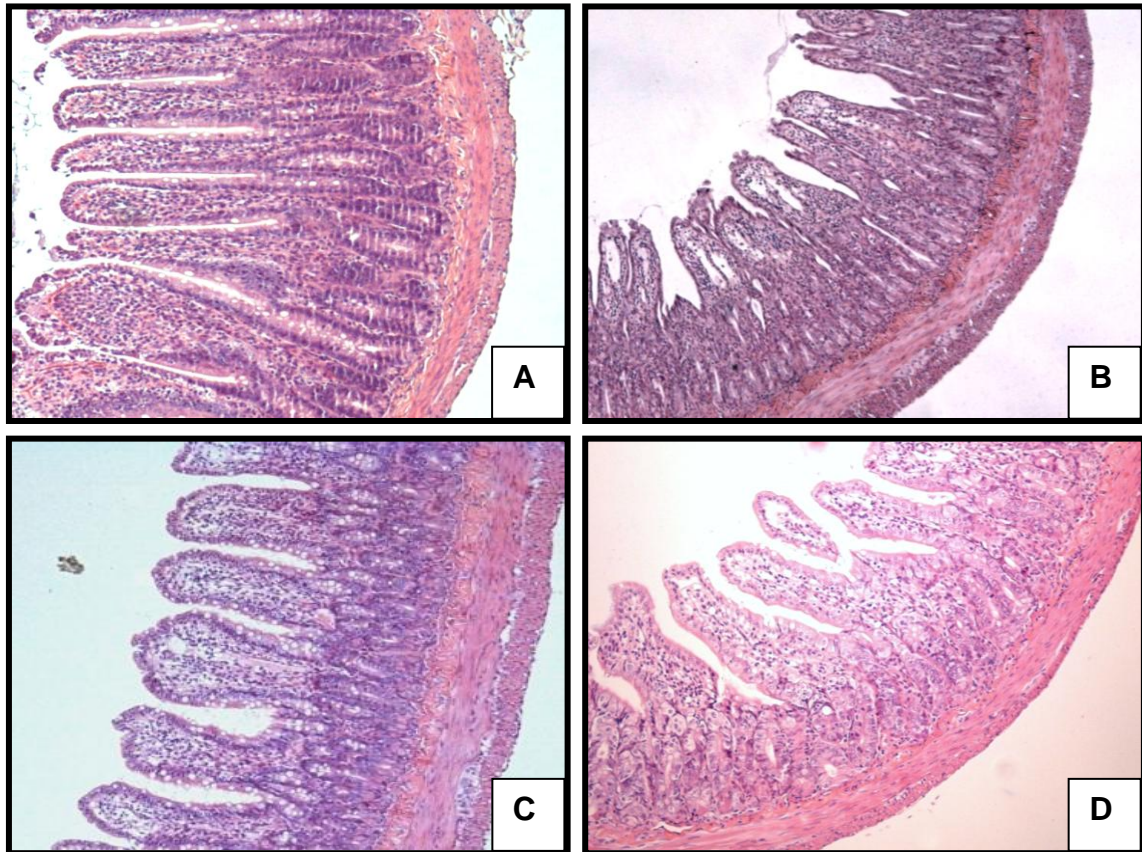


**FIGURA 8- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no jejuno induzidas por 5- FU em ratos.** Fotomicrografias (100X) do jejuno de ratos tratados salina (A), 5-FU + salina (B), 5-FU + PTX (C), ou 5-FU + DEXA (D) durante três dias e sacrificados no quarto dia. Observa-se que os tratamentos com PTX (C) ou DEXA (B) preveniram o encurtamento dos vilos e aprofundamento das criptas (B) induzido por 5- FU (B).

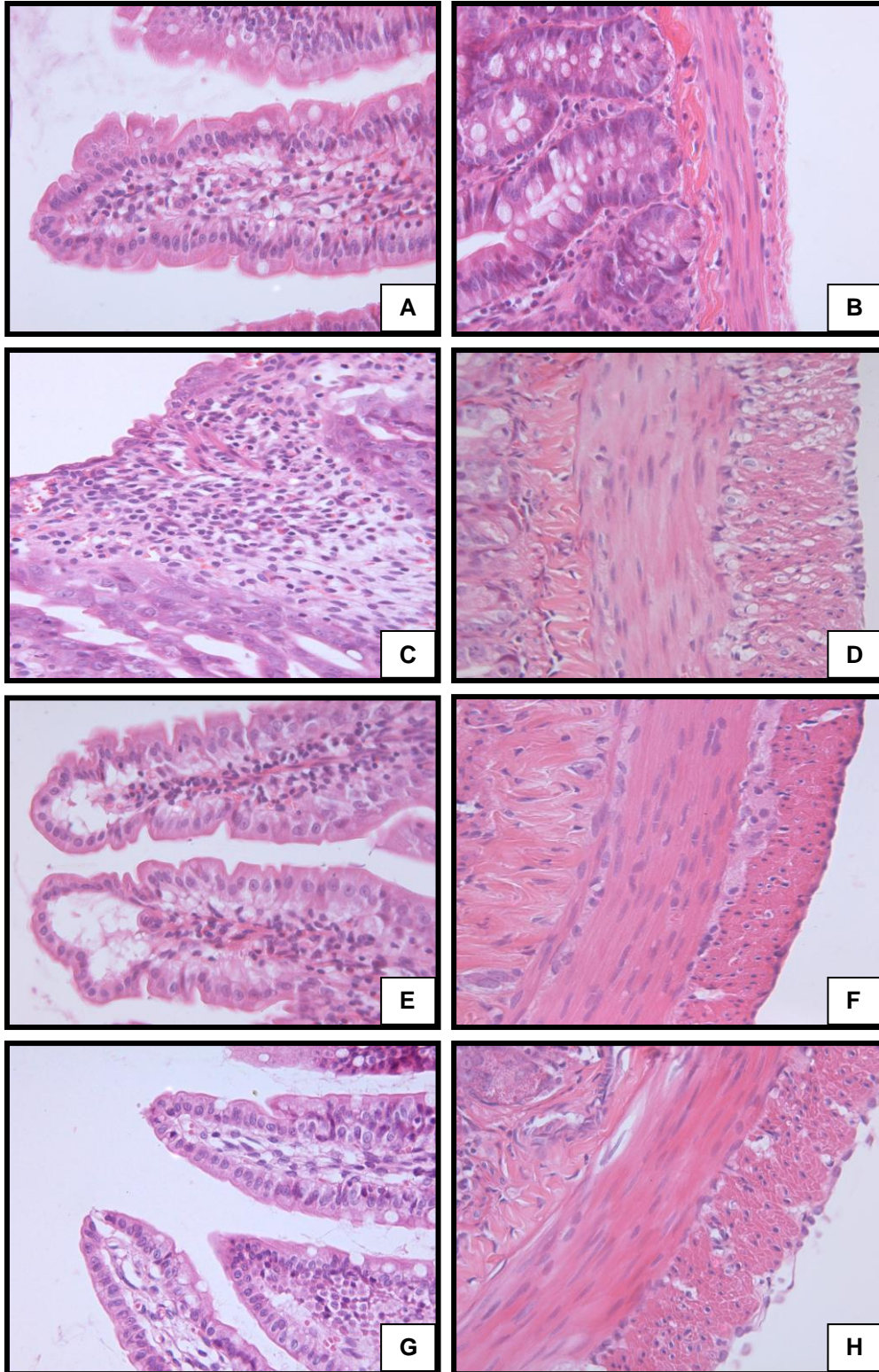


**FIGURA 9- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no jejunum induzidas por 5- FU em ratos.** Fotomicrografias (400X) do jejunum de ratos tratados salina (A, B), 5-FU + salina (C, D), 5-FU + PTX (E, F), ou 5-FU + DEXA (G, H) durante três dias e sacrificados no quarto dia. Observa-se que o tratamento com PTX (E, F) ou DEXA (G, H) revertem o intenso infiltrado inflamatório, vacuolização e edema na mucosa e na muscular induzidos por 5- FU (C, D).





**FIGURA 10- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no íleo induzidas por 5- FU em ratos.** Fotomicrografias (100X) do íleo de ratos tratados salina (A), 5-FU + salina (B), 5-FU + PTX (C), ou 5-FU + DEXA (D) durante três dias e sacrificados no quarto dia. Observa-se que os tratamentos com PTX (C) ou DEXA (B) preveniram o encurtamento dos vilos e aprofundamento das criptas (B) induzido por 5- FU (B).



**FIGURA 11-** Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nas alterações histopatológicas no íleo induzidas por 5- FU em ratos. Fotomicrografias (400X) do íleo de ratos tratados com salina (A, B), 5-FU + salina (C, D), 5-FU + PTX (E, F), ou 5-FU + DEXA (G, H) durante três dias e sacrificados no quarto dia. Observa-se que o tratamento com PTX (E, F) ou DEXA (G, H) preveniram o intenso infiltrado inflamatório, vacuolização e edema na mucosa e na muscular induzidos por 5- FU (C, D).

#### 4.4 Efeito da PTX ou DEXA nos escores morfológicos de lesão intestinal por 5-FU em ratos

Em relação aos escores de classificação dos aspectos histopatológicos foi evidenciado que os animais que receberam somente salina (controle) apresentaram mucosa e muscular normais no duodeno, jejuno e íleo. O grupo que recebeu 5-FU + salina apresentou nos três segmentos estudados as seguintes características: mucosa com vilos encurtados com células vacuolizadas, necrose das criptas, intenso infiltrado inflamatório, vacuolização e edema, e muscular com edema, vacuolização, infiltrado neutrofílico, o que conferiu um escore muito mais alto que o grupo controle. Os grupos que receberam 5-FU + PTX ou 5-FU + DEXA apresentaram uma significativa melhora nos escores microscópicos, não sendo observados danos na muscular (TABELA 3).

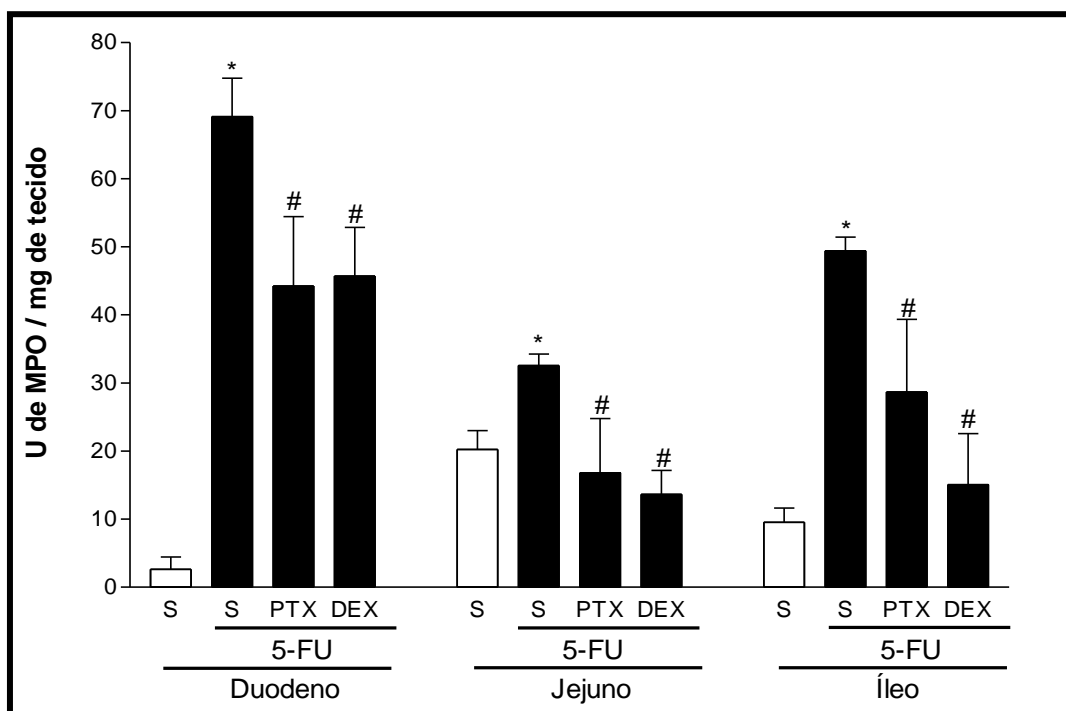
**Tabela 3 – Escores histopatológicos nos segmentos intestinais de ratos submetidos à mucosite intestinal induzida por 5-FU e tratados ou não com PTX ou DEXA.**

	Escore Histopatológico			
	SALINA	5-FU		
	SALINA	SALINA	PTX	DEXA
DUODENO	0 (0-0)	2 (2-3)*	1 (0-1) <sup>#</sup>	0 (0-1) <sup>#</sup>
JEJUNO	0 (0-1)	3 (2-3)*	1 (0-3) <sup>#</sup>	0 (0-1) <sup>#</sup>
ÍLEO	0 (0-0)	3 (3-3)*	1 (0-3) <sup>#</sup>	1 (0-2) <sup>#</sup>

Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M. \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo salina e #  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo S- FU + salina, pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de múltiplas comparações de Dunns.

#### 4.5 Efeito do tratamento com PTX ou DEXA no aumento da atividade de MPO nos segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos.

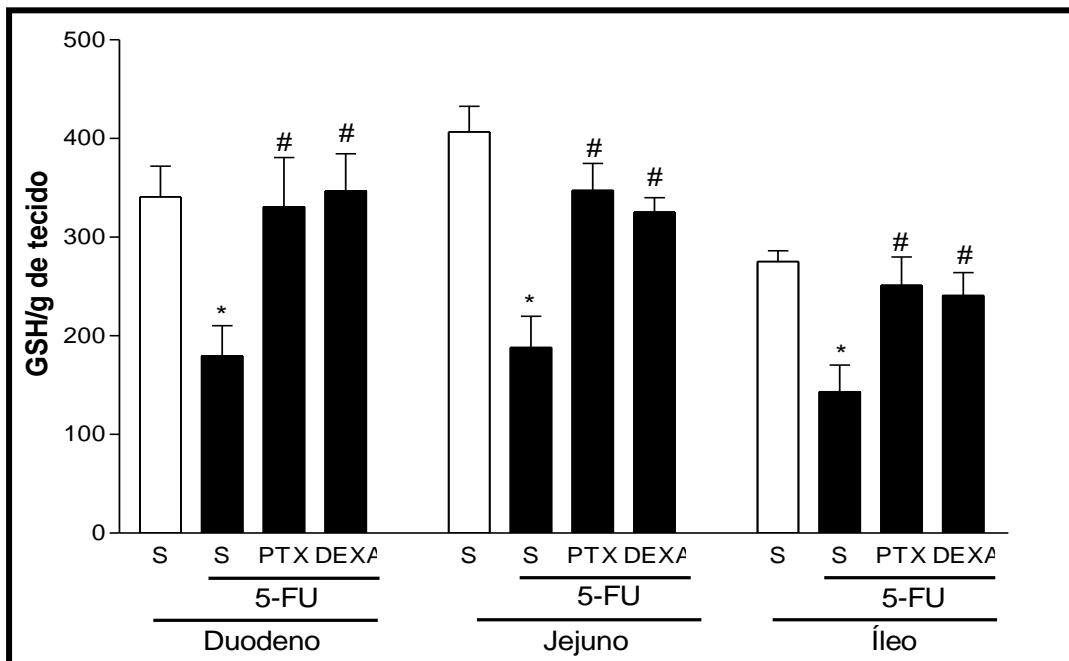
Na figura 12, observamos que no duodeno, jejuno e íleo dos animais que receberam somente 5-FU houve um aumento significativo da atividade de MPO, quando comparado ao grupo de animais controle (salina). Os tratamentos com PTX ou com DEXA reduziram a atividade de MPO nos três segmentos estudados, quando comparados aos animais que receberam somente 5-FU.



**FIGURA 12 – Efeito do tratamento com PTX ou DEXA no aumento da atividade de MPO nos segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos.** Animais foram pré-tratados com salina (S) ou 5-FU e receberam durante três dias consecutivos doses i.p. de PTX, subcutânea de DEX ou salina (S), sendo sacrificados no quarto dia experimental. Segmentos de duodeno, jejuno e íleo foram obtidos para a realização do ensaio da atividade de MPO. Os valores foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo salina (S), #  $p < 0,05$  comparados com o grupo 5- FU + salina, pelo teste ANOVA seguido de Bonferroni.

#### 4.6 Efeito do tratamento com PTX ou DEXA na diminuição da concentração de GSH nos segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos

O tratamento com 5-FU induziu uma significativa redução da concentração de GSH no duodeno, jejuno e íleo, quando comparado com o controle (salina). Tanto o tratamento com PTX como com DEXA reverteram estes efeitos do 5- FU (FIGURA 13).



**FIGURA 13– Efeito do tratamento com PTX ou DEXA na diminuição da concentração de GSH nos segmentos intestinais induzidas por 5- FU em ratos.** Animais foram pré-tratados com salina (S) ou 5-FU e receberam durante três dias consecutivos doses i.p. de PTX, subcutânea de DEX ou salina (S), sendo sacrificados no quarto dia experimental. Segmentos de duodeno, jejuno e íleo foram obtidos para aferir a concentração de GSH. Os valores foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo salina (S), #  $p < 0,05$  comparados com o grupo 5- FU + salina. pelo teste ANOVA seguido de Bonferroni.

#### 4.7 PTX e DEXA reverteram o aumento dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ no duodeno induzido por 5-FU em ratos

Na tabela 4, observa-se que 5- FU induziu um aumento na concentração de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  no duodeno quando comparados aos animais que receberam salina (controle). Foi observado ainda que os tratamentos com PTX ou DEXA

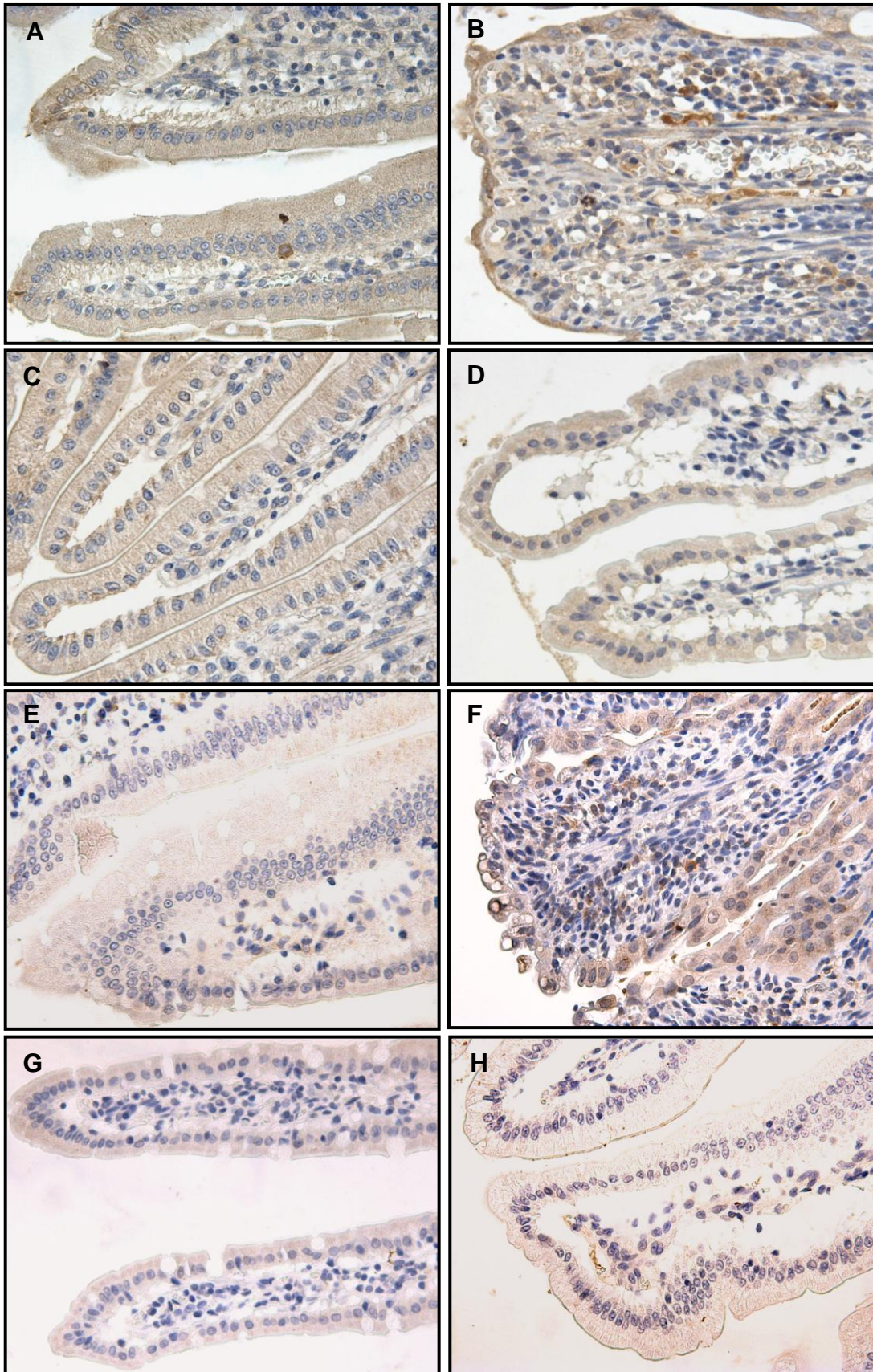
diminuíram significativamente as concentrações de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  na mucosa duodenal no curso da mucosite intestinal induzida por 5- FU.

Em relação a imunohistoquímica, a figura 10 mostra que uma imunomarcção acentuada para TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  nas células da mucosa do duodeno de ratos submetidos à mucosite intestinal induzida por 5-FU ( FIGURA 14B e 14E), quando comparada a marcação observada na mucosa do duodeno de um animal normal não submetido à mucosite intestinal (FIGURA 14A e 14F). O tratamento com PTX (FIGURA 14C e 14G) ou DEXA (FIGURA 14D e 14 H) desencadeou uma menor imunomarcção para TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  no duodeno de ratos quando comparada com o duodeno de animais tratados somente com 5-FU (FIGURA 14B e 14E).

**Tabela 4 – O tratamento com PTX ou DEX reduziu o aumento da concentração TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  induzida por 5-FU no duodeno de ratos**

<b>Grupos</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	<b>IL-1<math>\beta</math> (pg/ml)</b>
Salina	157,30 $\pm$ 80,90	361,90 $\pm$ 46,11
5-FU + Salina	585,10 $\pm$ 99,27*	1494,00 $\pm$ 163,60*
5-FU + PTX	212,50 $\pm$ 37,14 <sup>#</sup>	873,40 $\pm$ 97,38 <sup>#</sup>
5-FU + DEXA	167,40 $\pm$ 28,32 <sup>#</sup>	1030,00 $\pm$ 101,90 <sup>#</sup>

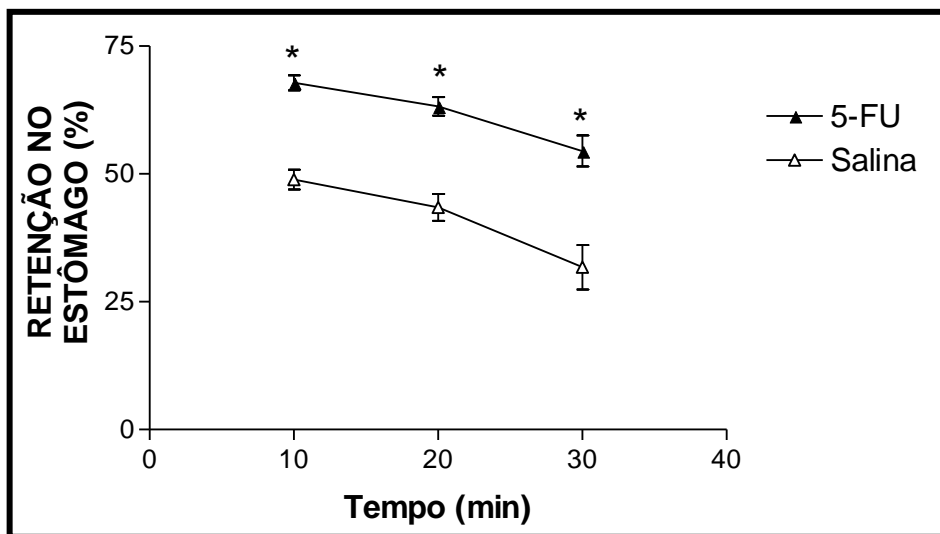
Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M. \*p<0,05 quando comparado ao grupo controle. # p<0,05 quando comparado ao grupo S- FU + salina. Teste ANOVA seguido de Bonferroni.



**FIGURA 14-** Fotomicrografias de imunohistoquímica para TNF- $\alpha$  (A- D) ou IL-1  $\beta$  (E- H) do duodeno de ratos (400X). Os animais foram tratados com salina (A e E), 5-FU (B e F), 5-FU + PTX (C e G) ou 5-FU + DEXA (D e H).

#### 4.8 Esvaziamento gástrico de líquidos em ratos acordados e tratados com 5-FU ou salina.

Na Figura 15, observa-se que nos tempos de 10, 20 ou 30 minutos após a refeição, os animais tratados com 5-FU apresentaram um maior retardo do esvaziamento gástrico, quando comparado com o controle que recebeu apenas salina.



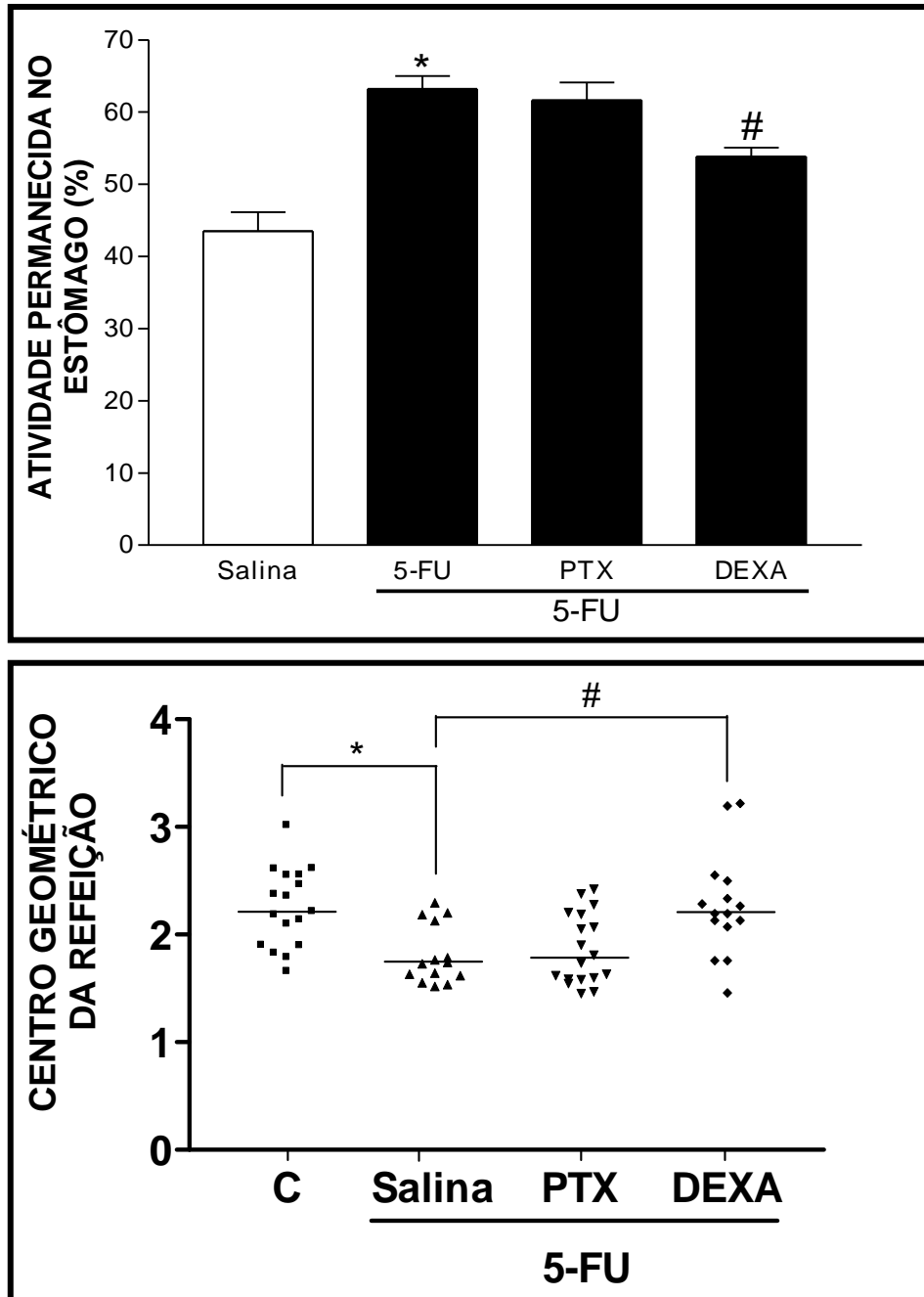
**FIGURA 15 – Esvaziamento gástrico de líquidos em ratos acordados e tratados com 5-FU ou salina (controle).** Os animais foram tratados com 5-FU ou salina. Após 3 dias, receberam gavagem de 1,5 ml da solução glicosada (5%) contendo vermelho de fenol a 0,75 mg/ml. Os resultados mostram a quantidade de vermelho fenol recuperada no estômago, 10, 20 ou 30min depois da gavagem. Os valores foram expressos como porcentagem da atividade total no trato gastrointestinal. Os valores foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. \*  $p < 0.05$  comparado ao grupo salina, pelo teste ANOVA seguido de Bonferroni.

#### 4.9 DEXA, mas não PTX, reverte o retardo do esvaziamento e do transito gastrintestinal associado à mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos

Na Figura 16, podemos notar que o 5-FU induziu um significativo aumento na retenção gástrica (painel A) associada a uma redução do centro de massa (painel B), quando comparado com o controle (salina). Estes achados foram parcialmente revertidos com o tratamento com DEXA. Por outro lado, não foram observadas



diferenças no esvaziamento gástrico e no transito gastrointestinal entre o grupo 5-FU+ PTX e o grupo 5-FU + salina.



**FIGURA 16- Efeito do tratamento com PTX ou DEXA nos retarde do esvaziamento gástrico e do transito gastrointestinal induzidas por 5- FU em ratos.** Animais foram pré-tratados com salina (S) ou 5-FU e receberam durante três dias consecutivos doses i.p. de PTX, subcutânea de DEX ou salina (S), sendo sacrificados no quarto dia experimental. No dia do experimento, os animais receberam por gavagem de 1,5 ml da solução glicosada (5%) contendo vermelho de fenol a 0,75 mg/ml. Os resultados mostram a quantidade de vermelho fenol recuperada no estômago (painel A), 20 min depois da gavagem e o centro geométrico da distribuição da refeição (painel B). Os valores foram expressos como porcentagem da atividade total no trato gastrointestinal. Os valores foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. \*  $p < 0.05$  comparado ao grupo salina, pelo teste ANOVA seguido de Bonferroni.

*DISCUSSÃO*

---

---

## 5 DISCUSSÃO

A mucosite do trato gastrintestinal está relacionada com a toxicidade associada a muitos regimes quimioterápicos utilizado no tratamento do câncer, sendo mais proeminente no intestino delgado (SONIS *et al.*, 2004). Sua incidência varia de 15 a 40% em esquemas de quimioterapia convencional e pode chegar a 100% em pacientes submetidos a transplante de medula óssea (RUBENSTEIN *et al.*, 2004). O presente estudo demonstrou que o tratamento com 5-FU foi capaz de induzir uma lesão intestinal com um importante comprometimento da barreira epitelial funcional com a presença das seguintes alterações: encurtamento acentuado das vilosidades intestinais, necrose parcial de criptas, achatamento e vacuolização de enterócitos, presença de infiltrado mono e polimorfonucleares, produção de radicais livres com consumo de GSH, aumento nas citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-1) no duodeno e alterações na motilidade digestiva.

Nossos dados estão de acordo com a literatura, que demonstra que a injúria epitelial associada à utilização de quimioterápicos antineoplásicos, geralmente, ocorre com infiltração de neutrófilos para a mucosa intestinal, isso, configura a fase inflamatória da mucosite (SONIS *et al.*, 2004) também descrita por Duncan e Grant (2003). Assim, a mucosite induzida por antineoplásicos provoca destruição das células epiteliais e subsequente indução de resposta inflamatória local (SONIS *et al.*, 2004; RUBENSTEIN *et al.*, 2004).

Os antineoplásicos têm efeito direto na atividade proliferativa das células epiteliais, pois provoca destruição das células de divisão presentes na cripta, responsável pela renovação epitelial dos vilos (DUNCAN; GRANT, 2003, KEEFE *et al.*, 2000) como também provocam a geração de estresse oxidativo e liberação de espécies reativas de oxigênio, que constituem uma das etapas iniciais para o desenvolvimento da mucosite. As espécies reativas de oxigênio causam danos diretos às células, tecidos, vasos sanguíneos, além de estimular fatores de transcrição, como o fator nuclear kB (NF-kB), que regula expressão de múltiplos genes imunes e inflamatórios. Sendo assim, a ativação do NF-kB resulta na liberação de vários mediadores inflamatórios, incluindo citocinas pró inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  (HALL *et al.*, 1993; SONIS *et al.*, 2000). As citocinas pró-inflamatórias podem estimular a produção de outras citocinas, de metabólitos do

ácido araquidônico e das proteases por macrófagos, neutrófilos, células do músculo liso, fibroblastos e células epiteliais (SARTOR, 1994).

Pode-se destacar a importante participação dos neutrófilos, tanto nos achados, onde observamos um aumento importante da atividade da enzima mieloperoxidase, como nos achados da literatura, que revelam os neutrófilos como componentes centrais da resposta inflamatória, fato relevante para os mecanismos de fagocitose, para produção de radicais livres e para produção e ativação de mediadores inflamatórios (REAVES; CHIN; PARKOS, 2005). Trabalhos de Edens *et al.* (2002) que usam o modelo *ex vivo*, mostram que a migração de neutrófilo para as células epiteliais pode induzir alterações de permeabilidade do epitélio intestinal. Essas alterações da permeabilidade do epitélio intestinal poderiam estar relacionadas a eventos diarreicos associados à mucosite intestinal por 5-FU.

As causas de diarreia estão diretamente relacionadas ao uso de quimioterápicos no tratamento anticâncer e podem envolver redução da superfície absorptiva do intestino, aumento de motilidade, mecanismos secretores de eletrólitos e fluidos, redução da atividade enzimática intestinal e aumento da colonização da parede intestinal por agentes infecciosos (ENGELKING *et al.*, 1998). Como consequência da perda da função de barreira, o sistema imune da mucosa é exposto a vários estímulos microbianos, como lipopolissacarídeos, respondendo com a liberação de citocinas inflamatórias e antiinflamatórias (TSUJI *et al.*, 2003).

No decorrer da presente investigação, observou-se, ainda, que o tratamento com 5-FU induziu um aumento significativo na concentração de TNF -  $\alpha$  e IL-1 $\beta$  no terceiro dia pós-tratamento no segmento duodenal de ratos e isso se correlaciona com os outros achados inflamatórios. A literatura tem mostrado que outras drogas utilizadas na quimioterapia do câncer podem levar a mucosite intestinal com a participação de citocinas. Melo (2008) demonstrou que o irinotecano (CPT-11), outro importante quimioterápico bastante utilizado na clínica, causa significativo dano à mucosa intestinal, induzindo um aumento significativo na concentração de TNF -  $\alpha$ , IL-1 e KC no segmento duodenal de camundongos. Outros trabalhos observaram que a radioterapia também foi capaz de induzir um aumento dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em modelos animais de mucosite oral (SONIS *et al.*, 2000). Essas evidências mostram a importância de citocinas no desenvolvimento da mucosite gastrintestinal induzida pelo tratamento anticâncer.

O TNF- $\alpha$  é uma citocina que possui muitas funções, incluindo participação na imunidade, indução de respostas inflamatórias e apoptose. Algumas das respostas ao TNF- $\alpha$  são mediadas pela caspase-1, que está envolvida na produção das citocinas IL-1 $\beta$ , IL-18 e IL-33 (JAIN *et al.*, 2007). Outra citocina do nosso interesse foi a IL-1 $\beta$ . Estudos demonstraram que essa citocina está aumentada na mucosa intestinal de pacientes com doenças inflamatórias intestinais e em tecidos intestinais de animais submetidos à colite experimental (YOUNGMAN *et al.*, 1993). Com isso, acredita-se que IL-1 $\beta$  possa ter importância no desenvolvimento de doenças inflamatórias intestinais. Yan *et al.* (2006) demonstraram que IL-1 $\beta$  estimula a expressão de genes responsáveis pela produção de fatores inflamatórios COX-2, MCP-1, MIP-2, iNOS, e RANTES em cultura de células epiteliais. De acordo com Yan *et al.* (2006) o aumento da expressão desses genes ocorre possivelmente pela ação de NF- $\kappa$ B. Por fim, trabalhos de Williams (2001) destacam que as citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-2 contribuem para a gravidade e manutenção da mucosite intestinal induzida por antineoplásicos.

Outro objetivo do nosso trabalho foi fazer um estudo funcional dos animais com mucosite intestinal induzida por 5-FU, tendo em vista que os efeitos colaterais mais freqüentes da quimioterapia antineoplásica são os sintomas gastrintestinais. Nossos dados demonstraram que a mucosite intestinal induzida por 5-FU em rato está associada a significativo retardo no esvaziamento gástrico e no trânsito gastrintestinal.

Várias evidências indicam que pacientes submetidos à terapia anticâncer podem sofrer de vários sintomas gastrintestinais, tais como, dispepsia, disfagia e diarreia (RIEZZO *et al.*, 2005). Esse conjunto de sintomas foi denominado síndrome dispéptica associado à quimioterapia do câncer (CADS). Recentemente, dados da literatura sugerem que as desordens da motilidade gastrintestinal podem ser uma das causas de CADS (NELSON; WALSH; SHEEHAN, 2002; RIEZZO *et al.*, 2005). 5-FU é uma das drogas antineoplásicas mais importantes e pode induzir mucosite intestinal que está associado à síndrome dispéptica (BAERG *et al.*, 1999).

O retardo no esvaziamento gástrico observado nos ratos tratados com 5-FU pode ser devido a um aumento na complacência gástrica e/ou a um aumento na resistência antro-duodenal (HABA; SARNA, 1993). Dados da literatura demonstraram que a inflamação intestinal está associada com anormalidades do

controle da motilidade gastrointestinal em modelos de lesão inflamatória (MARTINOLLE *et al.*, 1995; ANNESE *et al.*, 1997; MOREELS *et al.*, 2001; AKIHO *et al.*, 2005). Também foi demonstrado que a hipomotilidade intestinal e o retarde do esvaziamento gástrico podem ser encontrados em um modelo de íleo paralítico em rato (DE JONGE *et al.*, 2003). Observou-se ainda, que a sepse inibe a motilidade gastrointestinal podendo ser influenciada pela produção de óxido nítrico (DE WINTER *et al.*, 2002).

Tendo em vista os achados anteriormente descritos, utilizamos primeiramente o tratamento com pentoxifilina (PTX) nos animais com mucosite intestinal induzida por 5-FU. O tratamento com PTX reduziu significativamente as lesões intestinais, com recuperação da altura dos vilos, recuperação da profundidade das criptas, diminuição do infiltrado neutrofílico, aumento dos níveis de glutathiona e redução da concentração de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , sem alterar o retarde do esvaziamento gástrico e do transito gastrointestinal.

Um grande número de investigações tem descrito as propriedades antiinflamatórias da PTX, embora, o seu efeito na mucosite intestinal induzida pelo 5-FU não tenha sido estudada. O tratamento com dose única com PTX atenuou o edema e a inflamação na pancreatite experimental (GÓMEZ-CAMBRONERO *et al.*, 2000). Trabalhos realizados em nosso laboratório demonstraram que a PTX inibiu em ratos o edema de pata induzida pela toxina A do *Clostridium difficile* (CARNEIRO FILHO *et al.*, 2004), protegeu ratos da mucosite intestinal induzida por MTX (LIMA *et al.*, 2004) e hamsters da mucosite oral induzida por 5-FU, diminuindo a intensidade da hiperemia, edema, eritema e infiltrado de células inflamatórias (LIMA *et al.* 2005), além de prevenir parâmetros da inflamação presentes na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (MACEDO *et al.*, 2007). O efeito protetor da PTX encontrada no presente estudo pode ser explicado pela sua capacidade de inibir a produção de citocinas inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ . É demonstrado na literatura que a PTX reduz citocinas como TNF- $\alpha$  (SULLIVAN *et al.*, 1988; REIMUND *et al.*, 1997; HADDAD *et al.*, 2002; JI *et al.*, 2004), IL-1 $\beta$  (SILVA *et al.*, 2000) e IL-8 (GUTIERREZ-REYES *et al.*, 2006).

Outra importante droga investigada no nosso trabalho foi a dexametasona (DEXA). O tratamento com DEXA de maneira semelhante que a PTX, foi capaz de proteger a mucosa intestinal da lesão inflamatória induzida por 5-FU, que consistiu em: recuperar a razão entre a altura dos vilos e a profundidade das criptas,

diminuírem o infiltrado neutrofílico, promoverem o aumento dos níveis de glutathiona e reduzir o aumento de citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , além de reverter o retarde no esvaziamento gástrico provocado pelo tratamento com 5-FU o que não aconteceu no tratamento com PTX.

Os efeitos terapêuticos dos glicocorticóides são geralmente atribuídos à supressão de múltiplas vias sinalizadoras envolvidas na resposta inflamatória levando a uma redução nos níveis de mediadores químicos da inflamação (PGs, leucotrienos, citocinas, quimiocinas e NO) no sítio da injúria. Essas drogas são responsáveis pela indução da síntese de vários genes, incluindo o gene da anexina I, que inibe a fosfolipase A2 (PLA2), uma enzima responsáveis produção de ácido aracdônico a partir dos fosfolipídios da membrana celular, com posterior ativação das vias das ciclooxigenases, que determina formação de PGs, e pela ativação da via das lipooxigenases, responsável pela síntese dos leucotrienos (17 e 18). Tal mecanismo de ação pode explicar, pelo menos em parte o efeito global desses agentes sobre as células, contribuindo para a redução das conseqüências da resposta inflamatória (CAMERON, 2005; HIRSCHMANN; OLIVEIRA; SERRALHEIRO, 1991; GOLIKOV; NIKOLAEVA; MARCHENKO, 1994; STEWART *et al.*, 2002).

O fato da DEXA, mas não a PTX, reverter parcialmente às alterações na motilidade digestiva no curso da mucosite por 5-FU pode ser explicado pelo menos por duas hipóteses: 1- A DEXA foi mais eficaz em inibir a inflamação associada à mucosite por 5-FU que a PTX; 2- A DEXA, mas não a PTX, inibiu fatores relacionados às alterações da motilidade digestiva associadas à mucosite por 5-FU. A primeira hipótese não nos parece ser verdadeira, devido o fato que em nenhum aspecto da resposta inflamatória avaliado no nosso estudo, observamos uma potencia antiinflamatória maior da DEXA quando comparado com a PTX. Ademais, recentemente demonstramos que o retarde no esvaziamento gástrico associado a mucosite por 5-FU persiste mesmo com a resolução do processo inflamatório (SOARES *et al.*, 2008). O que tenta demonstrar que a alteração da motilidade digestiva observada na mucosite por 5-FU não se relaciona somente com a presença da resposta inflamatória. Assim acreditamos que a segunda hipótese possa ser a verdadeira. Os glicocorticóides possuem a capacidade de inibir inúmeros fatores relacionados ao processo inflamatório, controle metabólico e da resposta imunológica. Akiho *et al.* (2005) demonstraram que num modelo de

inflamação intestinal associada a *Trichinella spiralis* a manutenção dos distúrbios motores na fase pós inflamatória deve-se a uma expressão aumentada de TGF- $\beta$ , secundária a ativação imunológica do tipo TH2, com conseqüente “*up-regulation*” de COX-2, que leva a um aumento da produção de PGE2 a nível da musculatura lisa do trato digestório. Caso este modelo seja válido também para as alterações da motilidade associada ao 5-FU, poderíamos explicar o fato da DEXA, mas não a PTX, reverter estas alterações funcionais, pois somente a DEXA teria capacidade de inibir todos estes fatores imuno-inflamatórios.

E por fim, concluímos, que o 5-FU induz mucosite intestinal em ratos com a participação de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , a qual se associa com retarde no esvaziamento gástrico e no transito gastrintestinal. Demonstramos ainda que os tratamentos com PTX ou DEXA reduziram as lesões intestinais microscópicas, o infiltrado neutrofílico e a concentração de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , e aumentaram a concentração de glutathione reduzida. Por outro lado, somente a DEXA foi capaz de reverter parcialmente às alterações na motilidade digestiva associadas a mucosite por 5-FU em ratos. Assim, podemos inferir que a PTX e a DEXA possam ser, no futuro, utilizadas na clínica para diminuir o impacto da mucosite intestinal por antineoplásicos.



***CONCLUSÕES***

---

## 6 CONCLUSÃO

- A mucosite intestinal por 5-FU cursa com uma resposta inflamatória associada a alterações da motilidade gastrointestinal.
- Pentoxifilina e dexametasona protegem a mucosa intestinal dos achados inflamatórios induzidos por 5-FU. Contudo, somente a dexametasona foi eficiente em reverter as alterações motoras presentes na mucosite intestinal induzida por 5-FU;
- TNF-  $\alpha$  e IL-1 $\beta$  participam da fisiopatologia da mucosite intestinal induzida por 5-FU em ratos;

## ***REFERÊNCIAS***

---

---

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-SALAM, O. M. E.; BAIUOMY, A. R.; EL-SHENAWY, S. M.; ARBID, M. S. The anti-inflammatory effects of the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline in the rat. **Pharmacol. Res.**, v. 47, p. 331-340, 2003.
- AKIHO, H.; DENG, Y.; BLENNERHASSETT, P.; KANBAYASHI, H.; COLLINS, S. M. Mechanisms underlying the maintenance of muscle hypercontractility in a model of postinfective gut dysfunction. **Gastroenterology**, v. 129, n. 1, p. 131-141, 2005.
- ALTMANN, G. G. Changes in the mucosa of the small intestine following methotrexate administration or abdominal x-irradiation. **Am. J. Anat.**, v. 140, n. 2, p. 263-280, 1974.
- ANNESE, V.; BASSOTTI, G.; NAPOLITANO, G.; USAI, P.; ANDRIULLI, A.; VANTRAPPEN, G. Gastrointestinal motility disorders in patients with inactive Crohn's disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 32, p. 1107-1117, 1997.
- BAERG, J.; MURPHY, J. J.; ANDERSON, R.; MAGEE, J. F. Neutropenic enteropathy: a 10-year review. **J. Pediatr. Surg.**, v. 34, p. 1068-1071, 1999.
- BALIS, F. M.; SAVITCH, J. L.; BLEYER, W. A.; REAMAN, G. H.; POPLACK, D. G. Remission induction of meningeal leukemia with high-dose intravenous methotrexate. **J. Clin. Oncol.**, v. 3, n. 4, p. 485-489, 1985.
- BARNES, P. J.; ADCOCK, I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 14, p. 436-441, 1993.
- BESHAY, E.; CROZE, F.; PRUD'HOMME, G.J. The phosphodiesterase inhibitors pentoxifylline and rolipram suppress macrophage activation and nitric oxide production in vitro and in vivo. **Clin. Immunol.**, v.98, n.2, p. 272-9, 2001.
- BISHOP, J. F.; JOSHUA, D. E.; LOWENTHAL, R. M.; KRONENBERG, H.; WHITESIDE, M. G.; COBCROFT, R.; DODDS, A.; WOLF, M.; MANOHARAN, A. A phase I-II study of cytosine arabinoside, daunorubicin, and VP16-213 in adult patients with acute non-lymphocytic leukemia. **Aust. N. Z. J. Med.**, v. 16, n. 1, p. 48-51, 1986.
- BOMBINI, G.; CANETTI, C.; ROCHA, F. A. C.; CUNHA, F. Q. Tumour necrosis factor- $\alpha$  mediates neutrophil migration to the knee synovial cavity during immune inflammation. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 496, p. 197-204, 2004.
- BOUMPAS, D.T; CHROUSOS, G.P.; WILDER, R.L.; CUPPS, T.R.; BALOW, J.E. Glucocorticoid Therapy for Immune-Mediated Diseases: Basic and Clinical Correlates. **ACP.**, vol. 119 n. 12 p.1198-1208,1993.
- BRADLEY, P. P.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood.**, v. 60, n. 3, p. 618-622, 1982.

CABALLERO, G. A.; AUSMAN, R. K.; QUEBBEMAN, E. J. Long-term, ambulatory continuous iv infusion of 5-FU for the treatment of advanced adenocarcinomas. **Cancer Treat. Rep.**, v. 69, n. 1, p. 13-15, 1985.

CAMERON, M. H. Fighting inflammation. **Rehab. Manag.**, v.18, n. 6, p. 26-28, 2005.

CARNEIRO FILHO, B. A.; LIMA, L. P. F.; ARAÚJO, D. H.; CAVALCANTE, M. C.; CARVALHO, G. H. P.; BRITO, G. A. C.; LIMA, V.; MONTEIRO, S. M. N.; SANTOS, F. N.; RIBEIRO, R. A.; LIMA, A. A. M. Intestinal barrier function and secretion in methotrexate-induced rat intestinal mucositis. **Dig. Dis. Sci.**, v. 49, n. 1, p. 65-72, 2004.

COLLINS, S. M. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. **Gastroenterology.**, v. 111, p. 1683-1699, 1996.

DE JONGE, W. J.; VAN DEN WIJINGARD, R. F.; THE F. O., TER BEEK, M. L.; BENNINK, R. J.; TYTGAT, G.; BUIJS, R.; REITSMA, P.; VAN DEVENTER, S.; BOECKXSTAENS, G. Postoperative ileus is maintained by intestinal immune infiltrates that activate inhibitory neural pathways in mice. **Gastroenterology.**, v. 125, n. 4, p. 1137-1147, 2003.

DE WINTER, B. Y.; BREDENOORD, A. J.; DE MAN, J. G.; MOREELS, T. G.; HERMAN, A. G.; PELCKMANS, P. A. Effect of inhibition of inducible nitric oxide synthase and guanylyl cyclase on endotoxin-induced delay in gastric emptying and intestinal transit in mice. **Shock.**, v. 18, p. 125-131, 2002.

DOHERTY, G. M.; JENSEN, J. C.; ALEXANDER, H. R.; BUESH, C.M.; NORTON, J. A. Pentoxifylline suppression of tumor necrosis factor gene transcription. **Surgery (St. Louis)**, v. 110, n. 2, p.192-198, 1991.

DUNCAN, M.; GRANT, G. Review article: oral and intestinal mucositis – causes and possible treatments. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 18, p. 853-874, 2003.

EDENS, H. A.; LEVI, B. P.; JAYE, D. L.; WALSH, S.; REAVES, T. A.; TURNER, J. R.; NUSRAT, A.; PARKOS, C. A. Neutrophil transepithelial migration: Evidence for sequential, contact-dependent signaling events and enhanced paracellular permeability independent of transjunctional migration. **J. Immunol.**, v. 169, p. 476–486, 2002.

ENGELKING, C.; RUTLEDGE, D. N.; IPPOLITI, C.; NEUMANN, J.; HOGAN, C. M. Cancer related diarrhea: a neglected cause of cancer-related symptom distress. **Oncol. Nurs. Forum** , v. 25, p. 859-860, 1998.

FLOWER, R. J. Prostaglandins, bioassay and inflammation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 147, suppl. 1, p. S182-S192, 2006.

FUNK, J. O.; ERNST, M.; SCHÖNHARTING, M. M.; ZABEL, P. Pentoxifylline exerts synergistic immunomodulatory effects in combination with dexamethasone or cyclosporin A. **Int. J. Immunopharmacol.**, v. 17, n. 12, p. 1007-1016, 1995.

GOLIKOV, P. P.; NIKOLAEVA, N. I.; MARCHENKO, V. V. Nonsteroidal anti-inflammatory agents as modulators of glucocorticoid function of receptors. **Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.**, n. 2, p. 47-52, 1994.

GÓMEZ- CAMBRONERO, L.; CAMPS, B.; DE LA ASSUNCIÓN, J. G.; CERDÁ, M.; PELLIN, A.; PALLARDÓ, F. V.; CALVETE, J.; SWEIRY, J. H.; MANN, G. E.; VIÑA, J.; SATRE, J. Pentoxifylline ameliorates cerulein-induced pancreatitis in rats: role of glutathione na nitric oxide. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** , v. 293, n. 2, p. 670-676, 2000.

GRAHAME-SMITH, D.; ARONSON, J. **Tratado da farmacologia clínica e farmacoterapia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 481.

GREM, J. L. 5-Fluoropyrimidines. In: CHABNER, B. A.; LONGO, D. L. **Cancer chemotherapy & biotherapy: principles and practice**. 3º Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. cap. 8, p. 185-264.

GUTIERREZ-REYES, G.; LOPEZ-ORTAL, P.; SIXTOS, S.; CRUZ, S.; RAMIREZ-IGLESIAS, M. T.; GUTIERREZ-RUIZ, M. C.; SANCHEZ-AVILA, F.; ROLDAN, E.; VARGAS-VORACKOVA, F.; KERSHENOBICH, D. Effect of pentoxifylline on levels of pro-inflammatory cytokines during chronic hepatitis C. **Scand. J. Immunol.**, v. 63, n. 6, p. 461-467, 2006.

HABA, T.; SARNA, S. K. Regulation of gastroduodenal emptying of solids by gastropyloroduodenal contractions. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. G261- G271, 1993.

HADDAD. J. J.; LAND, S. C.; TARNOW-MORDI, W. O.; ZEMBALA, M.; KOWALCZYK, D.; LAUTERBACH, R. Immunopharmacological potencial of selective phosphodiesterase inhibition.I. Diferencial regulation of lipopolysaccharide-mediated proinflammatory cytokine ( interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha) biosynthesis in alveolar epithelial cells. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 300, n. 2, p. 559-566, 2002.

HALL, E. D. Neuroprotective actions of glucocorticoid and nonglucocorticoid steroids in acute neuronal injury. **Cell. Mol. Neurobiol.**, v. 13, p. 415-432, 1993.

HIRSCHELMANN, R.; POCH, G.; RAFLER, I.; RICKINGER, O.; GIESSLER, J. Steroid-saving potency of nonsteroidal anti-inflammatory agents- a reevaluation with a new agent CGP28238 in rat inflammatory models. **Agents Actions Suppl.**, v. 32, p. 51-57, 1991.

HUIZINGA, T. W.; DIJKMANS, B. A. C.; VAN DER VELDE, E. A.; VAN DE POUW KRAAN, T. C.; VERWEIJ, C. L.; BREEDVELD, F. C. An open study of pentoxifylline and thalidomide as adjuvant therapy in the treatment of rheumatoid arthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, v.55, n.11, p. 833-836, 1996.

IKEMORI, E. H. A. ; OLIVEIRA T.; SERRALHEIRO I. F. D. (Eds.) **Nutrição em oncologia**. São Paulo: Lemar, 2003

JI, Q.; ZHANG, L.; JIA, H.; XU, J. Pentoxifylline inhibits endotoxin-induced NF-kappa B activation and associated production of proinflammatory cytokines. **Ann. Clin. Lab. Sci.**, v. 34, n. 4, p. 427-436, 2004.

KEEFE, D. M. K.; BREALEY, J.; GOLAND, G. J.; CUMMINS, A. G. Chemotherapy for cancer causes apoptosis that precedes hypoplasia in crypts of the small intestine in humans. **Gut**, v. 47, p. 632-637, 2000.

KLASSEN C. D. **Casarett & Doull's, Toxicology: the basic science of poisons**. 6. ed. McGraw-Hill, 2001.

KOENIG, H.; PATEL, A. Biochemical basis for fluorouracil neurotoxicity. The role of Krebs cycle inhibition by fluoroacetate. **Arch. Neurol.**, v. 23, n. 2, p. 155-160, 1970.

KWOK, K.; SCHUBERT, M. M. Drogas antineoplásicas. In: YAGIELA, J. A.; NEIDLE, E.A.; DOWD, F. **Farmacologia e terapêutica para dentistas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000. p. 533-548.

LACAVE, A. J.; BARON, F. J.; ANTON, L. M.; ESTRADA, E.; DE SANDE, L. M.; PALACIO, I.; ESTEBAN, E.; GRACIA, J. M.; BUESA, J. M.; FERNANDEZ, O. A.; BARON, G. M. Combination chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil 5-day infusion in the therapy of advanced gastric câncer: a phase II Trial. **Ann Oncol.**, v.2, n.10, p.751-754, 1991.

LEITÃO, R. F. C.; RIBEIRO, R. A.; BELLAGUARDA, E. A. L.; MACEDO, F. D. B.; SILVA, L. R.; ORIÁ, R. B.; VALE, M. L.; CUNHA, F. Q.; BRITO, G. A. C. Role of nitric oxide on pathogenesis of 5-fluorouracil induced experimental oral mucositis in hamster. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 59, n. 5, p. 603-612, 2007.

LEVI, F. A.; ZIDANI, R.; VANNETZEL, J. M., PERPOINT, B.; FOCAN, C.; FAGGIUOLO, R.; CHOLLET, P.; GARUFI, C.; ITZHAKI, M.; DOGLIOTTI, L., et al. Chronomodulated versus fixed-infusion-rate delivery of ambulatory chemotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid (leucovorin) in patients with colorectal cancer metastases: a randomized multi-institutional trial. **J. Natl. Cancer Inst.** , v. 86, n. 21, p. 1608-16617, 1994.

LIMA, V.; BRITO, G. A. C.; CUNHA, F. Q.; REBOUÇAS, C. G.; FALCÃO, B. A.; AUGUSTO, R. F.; SOUZA, M. L.; LEITÃO, B. T.; RIBEIRO, R. A. Effects of the tumour necrosis factor- $\alpha$  inhibitors pentoxifylline and thalidomide in short-term experimental oral mucositis in hamsters. **Eur. J. Oral. Sci.**, v. 113, n. 3, p. 210–217, 2005.

LIMA, V.; VIDAL, F. D. P.; ROCHA, F. A. C.; BRITO, G. A. C.; RIBEIRO, R. A. Effects of TNF- $\alpha$  inhibitors pentoxifylline and thalidomide on the alveolar bone loss in the short-term experimental periodontal disease in rats. **J. Periodontol.**, v. 75, n. 1, p. 162-168, 2004.

LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. P.; JOHNSTON, P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. **Nat. Rev. Cancer.**, v. 3, n. 5, p. 330-338, 2003.

MAGRATH, I. T.; JANUS, C.; EDWARDS, B. K.; SPIEGEL, R.; JAFFE, E. S.; BERARD, C. W.; MILIAUSKAS, J.; MORRIS, K.; BARNWELL, R. An effective therapy for both undifferentiated (including Burkitt's) lymphomas and lymphoblastic lymphomas in children and young adults. **Blood.**, v. 63, n. 5, p. 1102-1111, 1984.

MARCINKIEWICZ, J.; GRABOWSKA, A.; LAUTERBACH, R.; BOBECK, M. Differential effects of pentoxifylline, a non-specific phosphodiesterase inhibitor, on the production of IL-10, IL-12 p40 and p35 subunits by murine peritoneal macrophages. **Immunopharmacology**, v. 49, p. 335-343, 2000.

MARQUES, L. J.; ZHENG, L.; POULAKIS, N.; GUZMAN, J.; COSTABEL, U.; Pentoxifylline inhibits TNF-alpha production from human alveolar macrophages. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 159, n. 2, p. 508-511, 1999.

MARTINOLLE, J. P.; GARCIA-VILLAR, R.; MORE, J.; BUENO, L. Evidence for mast cell, leukotriene and nitric oxide involvement in the regulation of the adrenoreceptor number of inflamed small intestine in guinea pigs. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 3: p. 187-195, 1995.

MATTOX, T. W. Treatment of unintentional weight loss in patients with cancer. **Nutr. Clin. Pract.**, v. 20, n. 4, p. 400-410, 2005.

MINSKY, B. D.; COHEIN, A. M.; KEMENY, N.; ENKER, W. E.; KELSEN, D. P.; SCHWARTZ, G.; SALTZ, L.; DOUGHERTY, J.; FRANKEL, J.; WISEBERG, J. Pre-operative combined 5-FU, low dose leucovorin, and sequential radiation therapy for unresectable rectal cancer. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.** v. 25, n. 5, p. 821-827, 1993.

MISIRLIOGLU, C. H.; ERKAL, H.; ELGIN, Y.; URGUR, I.; ALTUNDAG, K. Effect of concomitant use of pentoxifylline and alpha-tocopherol with radiotherapy on the clinical outcome of patients with stage III non-small cell lung cancer: a randomized prospective clinical trial. **Med. Oncol.**, v. 23, n. 2, p.185-189, 2006.

MELO, M.; BRITO, G.; SOARES, R. C.; CARVALHO, S. B.; SILVA, J. V.; SOARES, P. M.; VALE, M. L.; SOUZA, M. H.; CUNHA, F. Q.; RIBEIRO, R. A. Role of cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and KC) in the pathogenesis of CPT-11-induced intestinal mucositis in mice: effect of pentoxifylline and thalidomide. **Cancer Chemoth. Pharmacol.**, v. 61, n. 5, p. 775-784, 2008.

MILLER, M. S.; GALLIGAN, J. J.; BURKS, T. F. Accurate measurement of intestinal transit in the rat. **J. Pharmacol. Methods**, v. 6, n. 3, p. 211-217, 1981.

MOREELS, T. G.; DE MAN, J. G.; BOGERS, J.; DE WINTER, B. Y.; VROLIX, G.; HERMAN, A. G.; VAN MARCK, E. A.; PELCKMANS, P. A. Effect *Shistosoma mansoni*-induced granulomatous inflammation on murine gastrointestinal motility. **Am. J. Physiol.**, v. 280, p. G1030-G1042, 2001.



NELSON, K.; WALSH, D.; SHEEHAN, F. Cancer and chemotherapy-related upper gastrointestinal symptoms: the role of abnormal gastric motor function and its evaluation in cancer patients. **Support Care Cancer.**, v. 10, p. 455- 461, 2002.

NEUNER, P.; KLOSNER, G.; SCHAUER, E.; POURMOJIB, M.; MACHEINER, W.; GRUNWALD, C.; KNOBLER, R.; SCHWARZ, A.; LUGER, T. A.; SCHWARZ, T.; Pentoxifylline in vivo down-regulates the release of IL-1 beta, IL-6, IL-8, and tumor necrosis factor- alpha by human peripheral blood mononuclear cells. **Immunology**, v. 83, n. 2, p. 262-267, 1994.

OSWALD, W.; GUIMARÃES, S. **Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas**. 4. ed. Porto: Porto Editora, 2001. p. 716-718.

PARRILLI, G.; IAFFAIOLI, R. V.; MARTORANO, M.; CUOMO, R.; TAFUTO, S.; ZAMPINO, M. G.; BUDILLON, G.; BIANCO, A. R. Effects of anthracycline therapy on intestinal absorption in patients with advanced breast cancer. **Cancer Res.**, v. 49, n. 13, p. 3689-3691, 1989.

PEERS, S.H., SMILIE, F., ELDERFIELD, A.J. & FLOWER, R.J. Glucocorticoid- and non-glucocorticoid induction of lipocortins (annexins) 1 and 2 in rat peritoneal leukocytes in vivo. **Br. J.Pharmacol.**, 108, 66-72, 1993.

PICO, J-L.; AVILA-GARAVITO, A.; NACCACHE, P. Mucositis: its occurrence, consequences, and treatment in the oncology setting. **Oncologist.**, v.3,p.446-451, 1998.

PIRZADA, N. A.; ALI, I. I.; DAFER, R. M. Fluorouracil-induced neurotoxicity. **Ann. Pharmacother.**, v. 34, n. 1, p. 35-38, 2000.

PYRHONEN, S.; KUITUNEN, T.; NYANDOTO, P.; KOURI, M. Randomised comparison of fluorouracil, epidoxorubicin and methotrexate (FEMTX) plus supportive care with supportive care alone in patients with non-resectable gastric cancer. **Br. J. Cancer.**, v. 71, n. 3, p. 587-591, 1995.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Quimioterapia do câncer. In: **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. cap. 42, p. 557-575.

REAVES, T. A.; CHIN, A. C.; PARKOS, C. A. Neutrophil transepithelial migration: role of toll-like receptors in mucosal inflammation. **Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.**, v. 100, suppl. I, p. 191-198, 2005.

REIMUND, J. M.; DUMONT, S.; MULLER, C. D.; KENNEY, J. S.; KEDINGER, M.; BAUMANN, R.; POINDRON, P.; DUCLOS, B. In vitro effects of oxpentoxifylline on inflammatory cytokine release in patients with inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 40, p. 475-480, 1997.

RIBEIRO, R. A.; FREITAS, H. C.; CAMPOS, M. C.; SANTOS, C. C.; FIGUEIREDO, F. C.; BRITO, G. A.; CUNHA, F. Q. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1

beta mediate the production of nitric oxide involved in the pathogenesis of ifosfamide induced hemorrhagic cystitis in mice. **J. Urol.**, v.167, n. 5, p. 2229-2234, 2002.

RIEZZO, G.; CHILOIRO, M.; RUSSO, F.; CLEMENTE, C.; DI MATTEO, G.; GUERRA, V.; DI LEO, A. Gastric electrical activity and gastrointestinal hormones in dyspeptic patients. **Digestion.**, v. 63, n. 1, p. 20-29, 2001.

RIEZZO, G.; CLEMENTE, C.; LEO, S.; RUSSO, F. The role of electrogastrography and gastrointestinal hormones in chemotherapy-related dyspeptic symptoms. **J. Gastroenterol.**, v. 40, p. 1107-1115, 2005.

ROSSO, R.; MAZZEI, T.; SOBRERO, A.;MINI, E.; CARTEI, G.; CONTE,P.; LABIANCA, R.; CARTEI,F.; FALCONE, A.; PANCERA,G. et al. Phase II trial of 5-fluorouracil and the natural I isomer of folinic acid in the treatment of advanced colorectal carcinoma. **Eur. J. Cancer**, v.30A, n. 3, p. 338-343, 1994.

ROTH, B. J.; SLEDGE, G. W. JR; WILLIAMS, S. D.; MEYER, S. C.; ANSARI, R.; FISHER, W. B. Methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin in metastatic breast cancer. A phase II trial of the Hoosier Oncology Group. **Cancer.**, v. 68 (2), p. 248-252, 1991.

RUBENSTEIN, E. B.; PETERSON, D. E.; SCHUBERT, M.; KEEFE, D.; MCGUIRE, D.; EPSTEIN, J.; ELTING, L. S.; FOX, P. C.; COOKSLEY, C.; SONIS, S. T. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. **Cancer**, v. 100, suppl. 9, p. 2026-2046, 2004.

RUTMAN, R. J.; CANTAROW, A.; PASCHKIS, K. E. The catabolism of uracil in vivo and in vitro. **J. Biol. Chem.**, v. 210, n. 1, p. 321-329, 1954.

SARTOR, R. B. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. **Gastroenterology**, v. 106, p. 533-539, 1994.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal. Biochem.**, v. 25, p. 1192–1205, 1968.

SCHMIDT-CHOUDHURY, A.; FURUTA, G. T.; LAVIGNE, J. A.; GALLI, S. J.; WERSHIL, B. K. The regulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  production in murine mast cells: Pentoxifyline or dexamethasone inhibits Ig-E-dependent production of TNF- $\alpha$  by distinct mechanisms. **Cell. Immunol.**, v. 171, n. 1, p. 140-146,1996.

SCHWARZ, N. T.; KALFF, J. C.; TÜRLER, A.; SPEIDEL, N.; GRANDIS, J. R.; BILLIAR, T. R.; BAUER, A. J. Selective jejunal manipulation causes postoperative pan-enteric inflammation and dysmotility. **Gastroenterology.**, v. 126, p. 159–169, 2004.

SILVA , J.C.R.; ROCHA, M.F.G.; LIMA, A.A.M.; BRITO, G.A.C.; DE MENEZES, D.B.; RAO, V.S.N. Effects of pentoxifylline and nabumetone on the serum levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in rats with adjuvant arthritis. **Inflamm. Res.**, v.49, p. 14-9, 2000.

SOARES, P.M.G.; MOTA, J.M.; GOMES, A.S.; OLIVEIRA, R.B.; ASSREUY, A.M.; BRITO, G.A.; SANTOS, A.A.; RIBEIRO, R.A.; SOUZA, M.H. Gastrointestinal dysmotility in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis outlasts inflammatory process resolution. **Cancer chemotherapy Pharmacol.** 2008 Mar.

SONIS, S. T. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. **Oral. Oncol.**, v. 34, p. 39-43, 1998.

SONIS, S. Oral complications. In: HOLLAND, J. F.; FREI, E.; BAST, R. C. **Cancer medicine**, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1997. p. 3255-3264.

SONIS, S. T. Oral complications of cancer therapy. In: DE VITA, V. T. JR.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. **Cancer – principles & practice of oncology**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1993. p. 2385-2393.

SONIS, S. T.; ELTING, L. S.; KEEFE, D.; PETERSON, D. E.; SCHUBERT, M.; HAUER-JENSEN, M.; BEKELE, B. N.; RABER-DURLACHER, J.; DONELLY, J. P.; RUBENSTEIN, E. B. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. **Cancer**, v. 100, suppl. 9, p. 1995-2025, 2004.

SONIS, S. T.; PETERSON, R. L.; EDWARDS, L. J.; LUCEY, C. A.; WANG, L.; MASON, L.; LOGIN, G.; YMAMKAWA, M.; MOSES, G.; BOUCHARD, P.; HAYES, L. L.; BEDROSIAN, C.; DORNER, A. J. Defining mechanisms of action of interleukin-11 on the progression of radiation-induced oral mucositis in hamsters. **Oral. Oncol.**, v. 36, n.4, p. 373–381, 2000.

STEWART, R.; BILL, R.; ULLAH, R.; MC CONAGHY, P.; HALL, S. J. Dexamethasone reduces pain after tonsillectomy in adults. **Clin. Otolaryngol. Allied Sci.**, v. 27, n. 5, p. 321-326, 2002.

STRATER, J.; WELLISCH, I.; RIEDL, S.; WALCZAK, H.; KORETZ, K.; TANDARA, A.; KRAMMER, P. H.; MOLLER, P. CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis in colon epithelial cells: a possible role in ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 113, p. 160, 1997.

STRIETER, R. M.; REMICK, D. G.; WARD, P. A.; SPENGLER, R. N.; LYNCH III, J. P.; LARRICK, J.; KUNKEL, S. L. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 155, n. 3, p.1230-1236, 1988.

SULLIVAN, G. W.; CARPER, H. T.; NOVICK, W. J. JR.; MANDELL, G. L. Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. **Infect. Immun.**, v. 56, n. 7, p. 1722-1729, 1988.

THEODOROU, V.; EUTAMENE, H.; FIORAMONTI, J.; JUNIEN, J. L.; BUENO, L. Interleukin 1 induces a neurally mediated colonic secretion in rats: involvement of mast cells and prostaglandins. **Gastroenterology**, v. 106, p. 1493-1500, 1994.

TSUJI E.; HIKI, N.; NOMURA, S.; FUKUSHIMA, R.; KOJIMA, J. OGAWA, T., MAFUNE, K.; MIMURA, Y.; KAMINISHI, M. Simultaneous onset of acute inflammatory response, sepsis-like symptoms and intestinal mucosal injury after cancer chemotherapy. **Int. J. Cancer.**, v.107, n. 2, p. 303-308, 2003.

VAN FURTH, A. M.; VERHARD-SEIJMONBERGEN, E. M.; VAN FURTH, R.; LANGERMANS, J. A. M. Effect of lisofylline and pentoxifylline on the bacterial-stimulated production of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 by human leucocytes. **Immunology**, v. 91, p.193-196, 1997.

WARD, A.; CLISSOLD, S. P. Pentoxifylline: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. **Drugs**, v. 34, n. 1, p. 50-97, 1987.

WEHNER, S.; SCHWARZ, N. T.; HUNSDOERFER, R.; HIERHOLZER, C.; TWEARDY, D. J.; BILLIAR, T. R.; BAUER, A. J.; KALFF, J. C. Induction of IL-6 within the rodent intestinal muscularis after intestinal surgical stress. **Surgery**, v. 137, p. 436–446, 2005.

WILLIAMS, D. A. Inflammatory cytokines and mucosal injury. **J. Natl. Cancer. Inst. Monogr.**, v. 29, p. 26-30, 2001.

WILSON, A. J.; GIBSON, P. R. Epithelial migration in the colon: filling in the gaps. **Clin. Sci.**, v. 93, p. 97-108, 1997.

YAN, S. R.; JOSEPH, R. R.; WANG, J.; STADNYK, A. W. Differential Pattern of Inflammatory Molecule Regulation in Intestinal Epithelial Cells Stimulated with IL-1. **J. Immunol.**, v. 177, p. 5604–5611, 2006.

YANG, K. D.; CHUEN, H-L.; SHAIQ, M-F. Pentoxifylline augments but does not antagonize TNF- $\alpha$ -mediated neuroblastoma cell differentiation: modulation of calcium mobilization but not cAMP. **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, v. 211, n. 3, p.1006-1014, 1995.

YOUNGMAN, K. R.; SIMON, P. L.; WEST, G. A.; COMINELLI, F.; RACHMILEWITZ, D. J.; KLEIN, S.; FIOCCHI, C. Localization of intestinal interleukin 1 activity and protein and gene expression to lamina propria cells. **Gastroenterology**, v. 104, p. 749-758, 1993.