

C 66328
R 13131-12/04

124-1010

Universidade Federal do Ceará – UFC

EFEITOS UROPROTETORES DO 2-MERCAPOETANO SULFONATO (MESNA), ISOLADO OU ASSOCIADO À DEXAMETASONA, NA PROFILAXIA DA CISTITE HEMORRÁGICA EM PACIENTES SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA À BASE DE IFOSFAMIDA

Marcos Venício Alves Lima

**Fortaleza – Ceará
2003**

TRAB
615.761
10 699e
2003
ex. 2

Marcos Venicio Alves Lima

**EFEITOS UROPROTETORES DO 2-MERCAPTOETANO SULFONATO (MESNA),
ISOLADO OU ASSOCIADO À DEXAMETASONA, NA PROFILAXIA DA CISTITE
HEMORRÁGICA EM PACIENTES SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA A BASE
DE IFOSFAMIDA**

Tese Apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Farmacologia do Departamento de Fisiologia e
Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do
grau de Doutor em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro

**Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida
Ferreira**

FORTALEZA

2003

L732e Lima, Marcos Venício Alves
Efeitos uroprotetores do 2-mercaptoetano sulfonato (mesna), isolado ou associado à dexametasona, na profilaxia da cistite hemorrágica em pacientes submetidos à quimioterapia à base de ifosfamida / Marcos Venício Alves Lima – Fortaleza, 2003.

107f.:il Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro
Tese (Doutorado). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Departamento de Fisiologia e Farmacologia. 1. Cistite. 2. Mesna. 3. Dexametasona. 4. Ifosfamida. I. Título.

CDD 616.63

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova em 21 de fevereiro de 2003, a tese intitulada: EFEITOS UROPROTETORES DO 2-MERCAPTOETANO SULFONATO (MESNA), ISOLADO OU ASSOCIADO À DEXAMETASONA, NA PROFILAXIA DA CISTITE HEMORRÁGICA EM PACIENTES SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA À BASE DE IFOSFAMIDA apresentada em sessão pública por MARCOS VENÍCIO ALVES LIMA, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

Banca Examinadora:

✓ Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro

Prof. Dr. Jorge Sabbaga

Prof. Dr. Francisco Váldeci de Almeida Ferreira

Prof. Dr. Francisco Airton Castro da Rocha

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes

Aos meus pais, Rocildo e Linda, que, acreditando na educação, como instrumento de libertação, e, mesmo diante das adversidades, envidaram os maiores esforços para ofertá-la, com toda generosidade, aos seus filhos.

À minha esposa Consuelo e aos meus queridos filhos Camila, Lucas e Gabriel, pelo apoio e compreensão, sobretudo quando, para executar este trabalho, tive que prescindir de seus convívios.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro, pelos ensinamentos de mestre e compreensão de amigo.

Ao meu co-orientador, Professor Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira, pela inestimável colaboração e incentivo no desenvolvimento deste estudo.

Aos meus colegas do Serviço do Serviço de Uro-Oncologia do Hospital do Câncer do Instituto de Câncer do Ceará, Professor Lúcio Flávio Gonzaga, José Marconi Tavares, Rômulo Augusto da Silveira e Manoel Eliézer Tomaz, pelo companheirismo e valorosa colaboração ao longo da execução deste trabalho.

À Professora Dra. Gerly Anne de Castro Brito, à Milena Maia de Moraes e ao bolsista de iniciação a pesquisa, Yuri Macêdo, por suas importantes contribuições nas etapas experimentais que consistiram na base racional deste estudo.

À Professora Elsie Studart Gurgel de Oliveira e Professor Cláudio Barbosa, pelas colaborações emprestadas ao trabalho, na revisão do vernáculo.

À Pesquisadora Ana Paula Soares Gondim, pela contribuição oferecida na análise e processamento dos dados referentes ao estudo.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
APRESENTAÇÃO.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Ifosfamida como Droga Promotora de Cistite Hemorrágica.....	17
1.1.1 Agentes Alquilantes.....	18
1.1.2 Ifosfamida.....	19
1.1.3 Cistite Hemorrágica	22
1.1.3.1 Conceito e Etiologia.....	22
1.1.3.2 Fisiopatologia.....	22
1.1.3.3 Quadro Clínico.....	24
1.1.3.4 Diagnóstico.....	25
1.1.3.5 Tratamento.....	25
1.1.4 Papel do MESNA e outros tióis na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	27
1.2 Dexametasona: da Experimentação em Animais ao Ensaio Clínico....	29
1.2.1 Dexametasona.....	30
1.2.2 Base Experimental para o Ensaio Clínico.....	33

2	OBJETIVOS	41
3	METODOLOGIA	43
	3.1 Seleção dos Pacientes.....	44
	3.2 Critérios de Inclusão.....	44
	3.3 Critérios de Exclusão.....	44
	3.4 Critérios de Interrupção do Tratamento.....	44
	3.5 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	45
	3.6 Aparelhos e Instrumento Laboratoriais.....	45
	3.7 Drogas, Soluções, Líquidos e Corantes.....	46
	3.8 Protocolo Clínico.....	46
	3.8.1 Administração das Drogas.....	46
	3.8.2 Análise Urinária: Sumário de Urina.....	47
	3.8.3 Exame Endoscópico: Cistoscopia.....	47
	3.8.4 Análise Histológica.....	49
	3.9 Análise Estatística.....	52
4	RESULTADOS	53
5	DISCUSSÃO	69
	5.1 Limitações Metodológicas.....	70
	5.2 Principais achados e correlatos na literatura	72
	5.3 Considerações finais	79
6	CONCLUSÕES	82
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
9	ANEXOS	100

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido aracdônico
AD	Água destilada
AMPc	3,5-ciclomonofofato de adenosina
AP-1	Fator ativador da proteína-1
α	Alfa
β	Beta
BK	Bradicinina
C5a	Quinto componente do complemento
g	Gramas
CAA	Cloroacetaldeído
CFS	Ciclofosfamida
CH	Cistite hemorrágica
COX	Cicloxigenase
COX-1	Cicloxigenase-1
COX-2	Cicloxigenase-2
DIMESNA	Ditiodietanosulfonato
DNA	Ácido desoxirribonucléico
2-DCE-IF	2-decloroetilifosfamida
3-DCE-IF	3-decloetilifosfamida
Me	Mediana
ev	Endovenoso
FAD	Flavina-adeninad nucleotídeo
FDA	Food and Drug Administration
HE	Hematoxilina e eosina
h	Horas
ICC	Instituto do Câncer do Ceará
IFN	Interferon
IFS	Ifosfamida

IL-1	Interleucina-1
IL-2	Interleucina-2
IL-3	Interleucina-3
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
Ip	Intraperitoneal
kDa	Quilodalton
LAFICA	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer
L-NAME	Éster metil L-N ^G -nitroarginina
LTB4	Leucotrieno B-4
MESNA	2-mercaptoetano-sulfonato
mg	Miligrama
µg	Micrograma
ml	Mililitro
n	Número
NADPH	Fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NF-κB	fator nuclear Kappa B
4-OH-IFS	4-hidroxifosfamida
PAF	Fator de Necrose Tumoral
PG	Prostaglandina
REF	Grupo de referência
RNA	Ácido ribonucléico
sc	Subcutâneo
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
vo	Via oral

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
FIGURA 1 – Representação esquemática do DNA, mostrando uma ligação covalente bifuncional de um agente alquilante inibindo o progresso da replicação do DNA celular.....	19
FIGURA 2 – Representação das fórmulas estruturais da ciclofosfamida e da ifosfamida.....	20
FIGURA 3 – Representação esquemática do metabolismo da ifosfamida	21
FIGURA 4 – Representação esquemática da participação de mediadores inflamatórios na patogênese da cistite hemorrágica induzida por oxazafosforinas.....	35
FIGURA 5 – Efeitos de esquemas terapêuticos, com MESNA e/ou dexametasona na profilaxia de cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, em ratos Wistar.....	36
FIGURA 6 – Efeitos de esquemas terapêuticos, com MESNA e/ou dexametasona na profilaxia de cistite hemorrágica induzida por ifosfamida, em ratos Wistar.....	37
FIGURA 7 – Efeito do MESMA, isoladamente ou em associação com dexametasona, na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	39
FIGURA 8 – Videocistoscopia.....	48
FIGURA 9 – Sistema digital de captura de imagem microscópica	49
FIGURA 10 – Aspecto microscópico de um espécime de biópsia vesical.....	50
FIGURA 11 – Exemplificação de achados microscópicos de bexigas de pacientes tratados com ifosfamida.....	51
FIGURA 12 – Avaliação do efeito dos diferentes tipos de profilaxia de cistite hemorrágica induzida por ifosfamida nas alterações do exame urinário quando se leva em conta a hematúria.....	55
FIGURA 13 – Efeito da terapia padrão com o MESNA na prevenção de CH.....	57
FIGURA 14 – Detalhe de uma visão vídeo-cistoscópica de um paciente tratado profilaticamente com o tratamento padrão de MESNA.....	58
FIGURA 15 – Efeito da terapia padrão com MESNA na prevenção de CH, quando se levam em conta os achados cistoscópicos.....	59
FIGURA 16 A – Aspecto microscópico de urotélio sem edema (400 x); B – Aspecto microscópico de um urotélio com edema intenso, porém sem erosão (400 x)	60
FIGURA 17 A – Aspecto microscópico de urotélio com avulsão focal, lâmina própria sem edema, porém com esclerose; B –Aspecto microscópico da lâmina própria intensamente edemaciada e com hialinização (400x).....	61

FIGURA 18 A – Aspecto microscópico do urotélio íntegro, com congestão vascular mínima na lâmina própria (400x); B – Aspecto de erosão urotelial completa (400x).....	62
FIGURA 19 – Aspectos microscópicos de espécimes de biópsias vesicais; A – Lâmina própria com edema intenso e infiltrado leucocitário (exocitose) rico em eosinófilos (400x); B – Detalhes da lâmina de A em maior aumento (1000x); C – Lâmina própria com intenso infiltrado leucocitário misto, com predomínio de mononucleares (400x); D – Detalhes da lâmina C em maior aumento.....	64
FIGURA 20 – Aspecto microscópico de espécime de biópsia vesical: A – Urotélio íntegro com congestão e hemorragia subepitelial, além de hialinização cereal (400x); B – Erosão completa (ulceração) do urotélio mais hemorragia e esclerose da lâmina própria.....	65
FIGURA 21 – Efeito da terapia padrão com MESNA na prevenção de CH.....	67
FIGURA 22 – Efeito da terapia padrão com MESNA e da substituição do MESNA por dexametasona na prevenção de CH, quando se leva em conta as alterações histológicas.....	68
FIGURA 23 – Efeito da terapia padrão com MESNA, da substituição do MESNA por dexametasona e da adição de dexametasona ao MESNA na prevenção de CH.....	68

LISTA DE TABELAS

TABELA	PÁGINA
TABELA 1 – Resultado da adoção dos critérios de Gray, na análise semiquantitativa dos eventos inflamatórios, nos animais tratados com ciclofostamida.....	37
TABELA 2 – Resultado da adoção dos critérios de Gray, na análise semiquantitativa dos eventos inflamatórios, nos animais tratados com ifosfamida.....	38
TABELA 3 – Resultado da adoção dos critérios de Gray, na análise semiquantitativa dos eventos inflamatórios, nos animais tratados com Ifostamida; papel da associação do MESNA com a dexametasona na profilaxia da CH.....	39
TABELA 4 – Distribuição dos pacientes estudados segundo o sexo e o tipo de profilaxia da cistite.....	54
TABELA 5 – Efeito das profilaxias de CH induzida por IFS na presença de leucócitos na urina.....	56
TABELA 6 – Efeito das profilaxias de CH induzida por IFS na presença de proteínas na urina.....	57
TABELA 7 – Proporção de edema urotelial observado à microscopia ótica nos espécimes vesicais, segundo o tipo de profilaxia para cistite hemorrágica.....	60
TABELA 8 – Proporção de edema na lâmina própria observado à microscopia ótica nos espécimes vesicais, segundo o tipo de profilaxia para cistite hemorrágica.....	61
TABELA 9 – Proporção de erosão urotelial observada à microscopia ótica nos espécimes vesicais, segundo o tipo de profilaxia hemorrágica.....	62
TABELA 10 – Tipo de celularidade observada nos casos de exocitose, segundo o tipo de profilaxia da CH.....	63
TABELA 11 – Percentual de hemorragia, observada à microscopia ótica, em tecido vesical obtido por biópsia, segundo a profilaxia utilizada para prevenção de CH.....	65
TABELA 12 – Proporção de hialinização e/ou esclerose, observadas à microscopia ótica, em biópsia vesical, segundo a profilaxia para cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	66

RESUMO

EFEITOS UROPROTETORES DO 2-MERCAPTOETANO SULFONATO (MESNA), ISOLADO OU ASSOCIADO À DEXAMETASONA, NA PROFILAXIA DA CISTITE HEMORRÁGICA EM PACIENTES SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA À BASE DE IFOSFAMIDA. LIMA, M.V.A.

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito para obtenção do título de Doutor em Farmacologia. Data da defesa: 21 de fevereiro de 2003. Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro.

Com base em resultados experimentais, em que se demonstrou que a dexametasona foi eficiente na prevenção do desenvolvimento de fenômenos inflamatórios na cistite hemorrágica (CH) induzida por ifosfamida (IFS), delineou-se um ensaio clínico prospectivo, aleatório, duplo cego, objetivando avaliar, comparativamente, a ação do MESNA, em seu esquema clássico de três doses (a primeira de 20% da dose de ifosfamida, endovenosamente, as demais de 40% e 40%, administradas via oral, às 02h00 e 06h00 do início da IFS, respectivamente), isoladamente ou em associação à dexametasona, na profilaxia desse tipo de afecção. Para tanto, em um dos grupos, as duas últimas doses do MESNA foram substituídas por 4 mg de dexametasona e, no outro grupo, a elas foi acrescentada idêntica dose de dexametasona. Foram incluídos no estudo 46 pacientes portadores de câncer, selecionados para tratamento com esquemas quimioterápicos contendo IFS, no Hospital do Câncer do Instituto de Câncer do Ceará, independente do sexo, da raça, da idade ou do estadiamento, cuja dose diária de IFS fosse igual ou superior a 1,8 g/m². Foram excluídos, no caso, pacientes cujos escores de Karnofsky fossem menores que 50, aqueles tratados com IF, ciclofosfamida ou corticosteróides nas últimas quatro semanas, além dos portadores de afecções do trato urinário ou submetidos a radioterapia pélvica. Na avaliação dos resultados, três parâmetros foram utilizados: a hematúria, os achados cistoscópicos e os achados histológicos. No que concerne ao primeiro parâmetro, adotou-se, como critério, para avaliar os resultados, a presença de hematúria em exames urinários, realizados 24 h após a última dose de ifosfamida, estratificada em graus I a III, de acordo com a quantidade de hemácias por campo de grande aumento. Após as coletas de urina, realizaram-se exames cistoscópicos e biópsias vesicais. As alterações vesicais macroscópicas, observadas através de cistoscopias, foram avaliadas mediante escores baseados nos critérios macroscópicos de Gray. Nas análises histológicas, feitas por três observadores, sem que tivessem conhecimento dos grupos aos quais pertenciam as lâminas examinadas, foi utilizada uma avaliação semiquantitativa, elaborada especialmente para o estudo. O grupo de referência (indivíduos não-tratados) permitiu a obtenção dos escores de base e o estabelecimento do ponto de corte. Os escores foram comparados mediante o teste exato de Fisher, com nível de significância de 95%. Considerando os parâmetros utilizados, o esquema tradicional de MESNA administrado em 3 doses, não preveniu completamente o desenvolvimento de fenômenos inflamatórios observados, mesmo que, clinicamente, nem sempre se caracterizasse cistite. A substituição das duas últimas doses do MESNA por dexametasona, no regime tradicional, produziu um efeito uroprotetor semelhante ao esquema tradicional, inclusive no que diz respeito à persistência de uma cistite subclínica; contudo a associação da dexametasona às duas últimas doses do MESNA, conferiu uroproteção adicional ($p < 0,05$), quando comparada com o MESNA, isoladamente.

ABSTRACT

UROPROTECTIVE EFFECTS OF 2-MERCAPTOETHANANESULFONIC ACID (MESNA) ADMINISTERED IN ASSOCIATION OR NOT WITH DEXAMETASONE ON PROPHYLAXIS OF HEMORRHAGIC CYSTITIS IN PATIENTS RECEIVING AN IFOSFAMIDE-CONTAINING CHEMOTHERAPY REGIMEN. LIMA, M.V.A.

Thesis submitted as a partial fulfillment for requirement to doctoral degree in Pharmacology at the Post graduation Pharmacology Course of the Federal University of Ceará. Defense date: February 21st, 2003. Advisor: Ronaldo de Albuquerque Ribeiro, M.D., PhD.

Based on results obtained in experimental studies, which demonstrated that dexametasone prevents the development of ifosfamide (IFS) induced hemorrhagic cystitis (HC), a prospective randomized double-blind clinical study was performed to compare the uroprotective efficacies of the regular 2-mercaptoethanesulfonic acid (MESNA) with MESNA and dexametasone in association in IFS-induced HC. A total of 46 cancer patients being treated at the Institute of Cancer of Ceará Hospital and receiving an ifosfamide-containing chemotherapy program, independent of sex, race, age or clinical stage were enrolled in this study. They were eligible for participating if the following criteria were fulfilled: ifosfamide dose per day of treatment equal or more than 1.8 g/m², Karnofsky's score more than 50; no ifosfamide, cyclophosphamide or glucocorticoid therapy in the last four weeks; absence of urinary tract affections or prior pelvic radiation therapy. Eligible patients were randomized into three groups: 1) Those receiving the usual three-dose regimen with MESNA. MESNA was given at a dose equal to the ifosfamide dose, divided into three doses: i.v. at the same time (20% of the ifosfamide dose), p.o. at 2 e 6 h following (40% of ifosfamide dose) the ifosfamide treatment. 2) Replacement of the last two dose of MESNA by dexametasone and 3) Addition of dexametasone to the last two dose of MESNA three doses regimen. Cystitis was evaluated by taking into account three parameters: microscopic hematuria, cystoscopic aspects and microscopic analysis of biopsy specimens. After 24 hour of completion of ifosfamide treatment, urinalysis was performed and hematuria was classified in grades, ranging from I to III, according to the intensity of red blood cells per high-power field. Immediately after this, cystoscopy and mucosal biopsy were performed. Concerning macroscopic evaluation, bladders were examined grossly through cystoscopy, for edema and hemorrhage according to modified Gray's criteria. Three observers performed independent histological examination of biopsy specimens and discussed at the end to confirm the results. Histological aspects were evaluated according to the criteria and scores specially elaborated for this study. A reference group (untreated patients) was used to obtain the baseline scores and the cut off establishment. Statistical significance ($p < 0.05$) was assessed by Fisher's exact test. According to these parameters, the regular three-dose regimen with MESNA did not provide complete uroprotection although most patients did not have clinical cystitis develop. Replacement of the two last doses of MESNA by dexametasone conferred similar uroprotection and subclinical cystitis. Finally, the addition of dexametasone to the MESNA three-dose regimen improved MESNA's uroprotection ($p < 0.05$).

APRESENTAÇÃO

Esta tese é o resultado de um estudo clínico realizado em pacientes portadores de sarcoma, câncer pulmonar, ósseo ou germinativo testicular, cujos esquemas quimioterápicos continham o agente citotóxico ifosfamida, em doses mais elevadas e, portanto, com risco de desenvolverem cistite hemorrágica. Trata-se de um estudo cooperativo, promovido e patrocinado pelo Laboratório da Inflamação e do Câncer (LAFICA), do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC), e pelos Serviços de Oncologia Clínica e Uro-Oncologia, do Hospital do Câncer do Instituto de Câncer do Ceará (ICC).

Este estudo clínico foi devidamente planejado para avaliar o papel da dexametasona na prevenção do desenvolvimento de cistite hemorrágica (CH) – um dos parâmetros limitantes do uso da ifosfamida. Para tanto, utilizou-se, como referência, o esquema profilático clássico, que é realizado com o 2-mercaptoetano sulfonato (MESNA).

O processo reflexivo que levou a este estudo, iniciou-se com a utilização do modelo animal experimental da CH, produzida por ciclofosfamida, utilizado por Phillips e publicado em 1961. Este modelo, considerado simples, preciso e verificável, deu origem a uma linha de pesquisa que resultou na elucidação de diversos aspectos relacionados à patogênese e à terapia da CH, induzida pela ciclofosfamida e pela ifosfamida. Assim, com respaldo nos resultados obtidos com o uso da dexametasona na profilaxia da CH e, ainda, na escassez de estudos relativos a essa afecção, publicados na literatura indexada, decidiu-se realizar o primeiro ensaio clínico do grupo de pesquisa que elaborou este estudo.

O primeiro capítulo resultou de uma pesquisa documental, abordando aspectos relacionados ao conceito, à patologia, à apresentação clínica e aos tratamentos até aqui propostos para cistite hemorrágica, resultante do uso de agentes alquilantes, como a ciclofosfamida e a ifosfamida. Por oportuno, conceitos, importância clínica, farmacocinética e farmacodinâmica destes agentes citotóxicos foram expostos no primeiro sub-capítulo, a fim de proporcionar subsídios técnicos para uma melhor compreensão da CH.

No segundo sub-capítulo do capítulo primeiro, completados os passos anteriores, foram prestadas informações obtidas no campo da literatura especializada, acerca da droga a ser testada (dexametasona), e expostas, juntamente com a motivação para a realização deste estudo, a fundamentação experimental para a formulação das hipóteses testadas.

O capítulo dois trata dos objetivos e, ainda que de forma breve, da importância da pesquisa.

Do terceiro capítulo, consta uma descrição minuciosa da metodologia, tendo como ponto de partida a opção por um estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego, em que foram utilizados parâmetros laboratoriais, endoscópicos e histológicos para a aferição e a comparação dos resultados. Às observações, a fim de se oferecer tratamento estatisticamente adequado, foram dados escores que propiciaram estudos de contingência.

O quarto capítulo apresenta, de forma detalhada e seqüencial, os dados obtidos, bem assim nos ensaios, permitindo, dessa maneira, que se possa identificar, facilmente, os resultados obtidos e vislumbrar as conclusões que virão a seguir.

O quinto capítulo, em que se apresenta a discussão, está centrado na comparação dos resultados e nos dados encontrados na literatura, concordantes ou contraditórios com cada hipótese de trabalho, bem como informações que darão origem à continuidade desta tese.

Por fim, o sexto capítulo apresenta as conclusões, ou seja, uma síntese dos resultados, aliada às indagações enunciadas nos objetivos.

1. INTRODUÇÃO

1.1 IFOSFAMIDA COMO DROGA PROMOTORA DE CISTITE HEMORRÁGICA

1.1.1 AGENTES ALQUILANTES

Os agentes alquilantes representam uma variedade de drogas citotóxicas, cuja similaridade reside no fato de terem um elemento citotóxico molecular comum. A substância alquilante ativa, em sua estrutura molecular, contém um grupamento químico em que há um átomo de nitrogênio ligado a um íon etileno ($--N-CH(2)-CH(2)--$), sendo o carbono terminal o sítio ligante ao DNA celular. Estas moléculas, altamente reativas que são, ligam-se covalentemente às moléculas nucleofílicas (COLVIN, 2001).

Em que pese obstante a ampla variedade de grupos químicos (amino, imidazólico, carboxil, sulfidril e fosfato) que os agentes alquilantes podem formar, a partir das ligações covalentes, é nas bases do DNA que se formam os mais importantes, no que diz respeito às suas ações terapêuticas. (COOPER, 1995). Estas ligações, no caso do DNA, têm ocorrência predominante na posição N-7 da guanina, embora, em menores proporções, possam ocorrer nas posições O-6 e N-1 da guanina; N-7 e N-1, da adenina; N-3 da citosina e O-4 da timina (BUBLEY et al., 1997).

Trata-se, portanto, de uma classe de agentes antitumorais de grande importância clínica, em cujo grupo se incluem a ifosfamida e a ciclofosfamida. As aludidas drogas, tais como os demais agentes alquilantes, ao entrarem na célula produzem ligações covalentes nos sítios hidrofílicos das bases nitrogenadas do ácido desoxirribonucléico (DNA) e em outras moléculas biologicamente importantes, fenômeno químico denominado de alquilação, resultando, no primeiro caso, em ligações cruzadas entre as hélices (FIGURA 1), que impedem o processo de divisão celular (TRUMP, 1998).

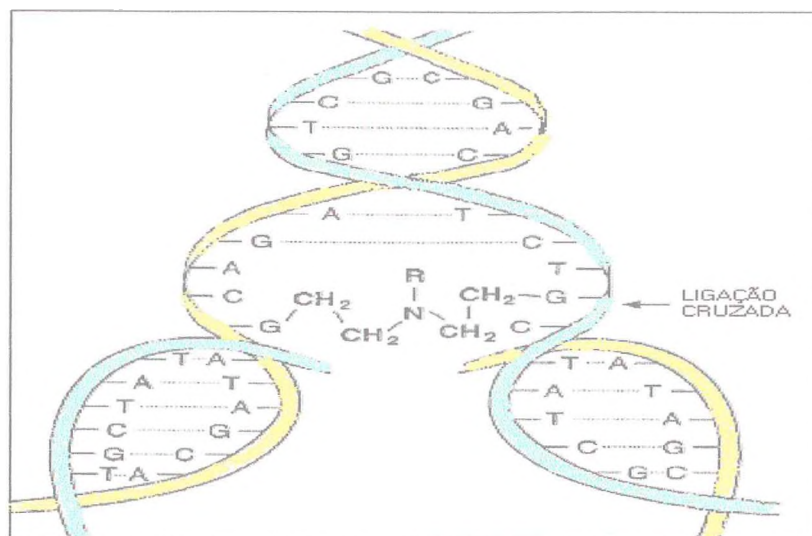


FIGURA 1 - Representação esquemática do DNA mostrando uma ligação covalente bifuncional de um agente alquilante inibindo o progresso da replicação do DNA celular.

Estas ligações resultam em uma multiplicidade de defeitos no DNA, variando desde a depuração, as quebras em fita simples e dupla, até as ligações cruzadas inter e intrafitas. Referidas alterações impedem as ocorrências de replicação e (ou) transcrição do DNA. Esses danos no código genético, se não reparados eficientemente, podem se traduzir por morte celular ou mutagênese.(COOPER, 1995).

1.1.2 IFOSFAMIDA

A ifosfamida (IFS) é um éster fosforamidídico integrante do grupo das oxazafosforinas, agente alquilante citostático e isômero estrutural da ciclofosfamida (CFS) (CALABRESI & CHABNER, 1992). Sintetizada em 1965, a IFS somente passou a fazer parte do arsenal terapêutico antineoplásico nos primórdios da década de setenta (HIGGS et al., 1989). A ifosfamida apresenta uma similaridade estrutural com a ciclofosfamida (FIGURA 2), na medida em que ambas possuem um anel oxazafosforínico. Entretanto, um dos grupos 2-cloroetil da primeira, está localizado no átomo de nitrogênio do anel (BROCK et al.,1988).

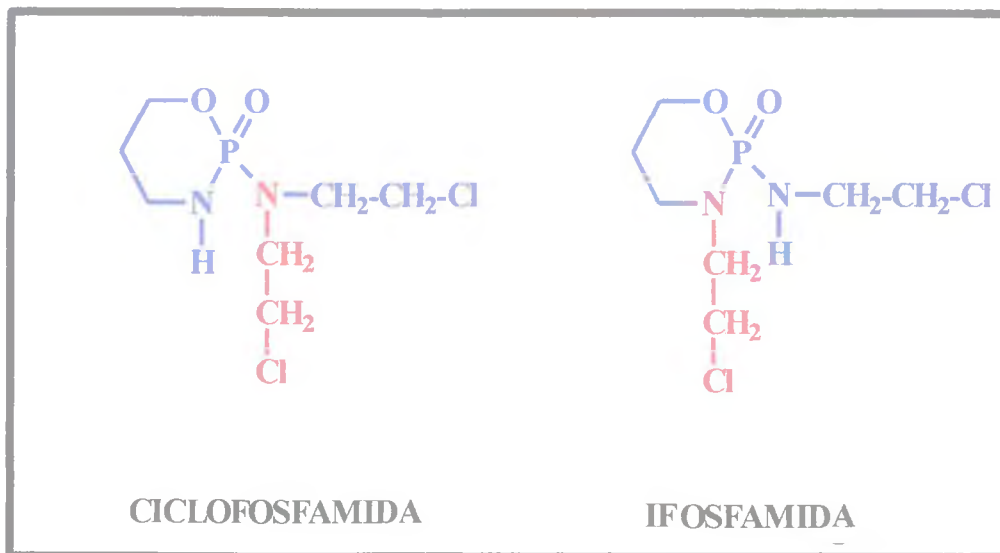


FIGURA 2 –Representação das fórmulas estruturais da ciclofosfamida e da ifosfamida

Esta modificação na estrutura química da IFS é responsável pelas diferenças físico-químicas, dentre as quais a hidrossolubilidade, bem como por outras propriedades farmacológicas e toxicológicas (WAGNER, 1994).

Em modelos animais, a ifosfamida revelou-se menos potente e com eficácia equivalente à ciclofosfamida, quando administrada em dose única. Não obstante, quando em regimes de múltiplas doses, a IFS foi mais eficaz (BROCK, 1983; ZALUSPKI & BAKER, 1988). Dessa maneira, logo após sua instituição na prática clínica, ficou claro que, para o tratamento de algumas neoplasias malignas, como o carcinoma de pequenas células do pulmão e os sarcomas de partes moles, a IFS, quando usada em combinação com outras drogas, era mais efetiva que a CFS (BRADE et al., 1985; GOLDIN, 1982; BRAMWELL et al., 1987). Nos dias atuais, tanto a ciclofosfamida como a ifosfamida são largamente utilizadas no tratamento de doenças linfoproliferativas, tumores sólidos e no condicionamento de transplante de medula óssea. A CFS ainda é utilizada no tratamento de doenças imunológicas (RUSSO, 2000).

Tal qual a ciclofosfamida, a ifosfamida é uma pró-droga, ou seja, é necessário que a IFS sofra uma primeira passagem, para que, em última análise, se transforme em metabólitos citotóxicos que são a 4-hidroxiifosfamida (4-OH-IF), a mustarda de isofosfaramida, a carboxil-ifosfamida e a cloroetil ifosfamida. Tanto a CFS como a IFS são transformadas em metabólicos ativos, originados, preferencialmente, no fígado (FRAISER et al, 1991), pelo sistema de oxidases de função mista do citocromo P450. Inicialmente, essa ativação se faz através da hidroxilação, na posição quatro do anel oxazafosforínico, por hidroxilase do sistema citocromo P450 (BROCK et al., 1988; BRADE & HERDRICH,

1986). Assim, a ifosfamida é metabolizada por oxidação do anel, também chamada de ativação, formando a 4-OH-IF (forma ativa mais importante), com liberação de cloroacetaldeído (CAA), formando os metabólitos inativos 3-descloroetilifosfamida (3-DCE-IF) ou 2-descloroetilifosfamida (2-DCE-IF) que passam por diversas etapas (FIGURA 3), até a formação de um último composto ativo, a mostarda de isofosforamida, e um produto secundário denominado de acroleína (KUROWSKI & WAGNER, 1997; WRIGHT et al., 1995; GOREN, 1991; LEWIS et al., 1991). Testes *in vitro* demonstraram que, embora todos esses metabólitos tenham uma ação citotóxica, efetivamente a 4-hidroxi-ifosfamida (4-OH-IF) é a mais ativa deles (ARNOLDT et al., 1988).

A inativação destes metabólicos se processa através de um complexo sistema metabólico, representado por desidrogenação irreversível. Essas reações são catalisadas pelas enzimas aldeído desidrogenase e aldeído oxidases. Vale destacar que, por apresentarem baixos níveis das mencionadas enzimas, as células tumorais são mais suscetíveis à ação da IFS, sendo esta uma das explicações para a ação seletiva da IFS. Dessa maneira, tumores que demonstrem uma atividade maior da enzima aldeído desidrogenase apresentam-se mais resistentes à atividade citotóxica das oxazafosforinas. (KOLB et al., 1994; LIND & ROBERTS, 1990; BROCK, 1989)

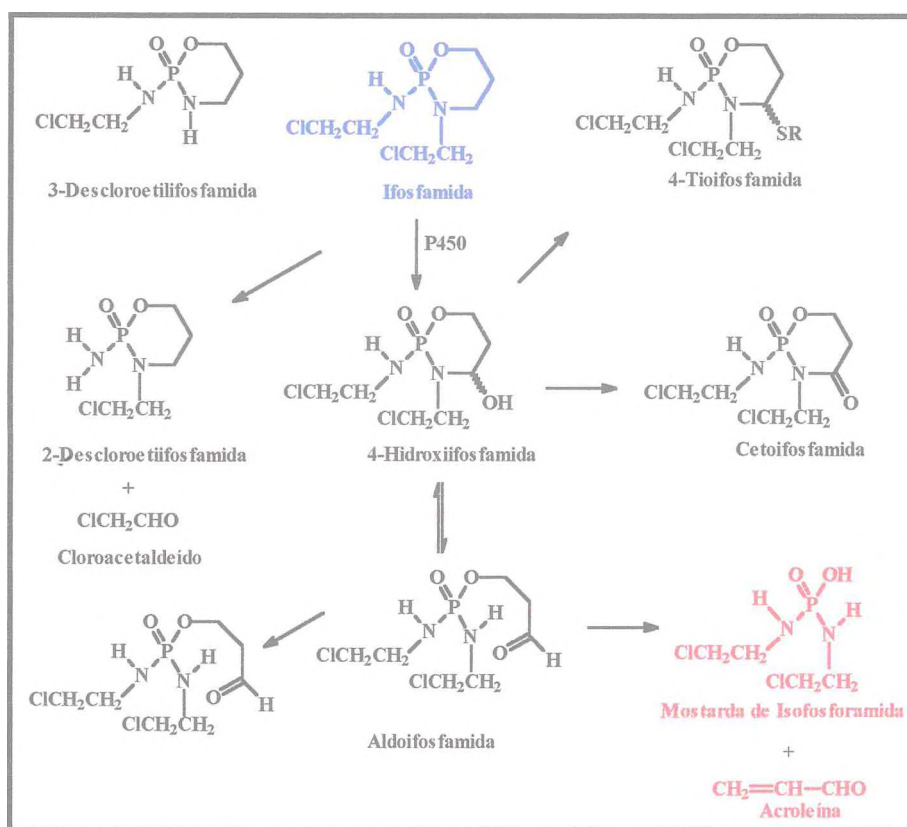


FIGURA 3 - Representação esquemática do metabolismo da ifosfamida

Quando comparada à ciclofosfamida, a ifosfamida é menos eficientemente hidroxilada; isso certamente explica o motivo pelo qual maiores doses de ifosfamida são necessárias para produzir iguais efeitos (COLVIN, 1982). Já a meia-vida plasmática da IFS é igual a da CFS, que é de 5 a 6 horas (WRIGHT et al., 1995; LEWIS et al., 1991).

1.1.3 CISTITE PRODUZIDA POR AGENTES ALQUILANTES

1.1.3.1 Conceito e Etiologia

Apesar do sucesso terapêutico da ifosfamida e da ciclofosfamida, um dos mais importantes fatores limitantes do uso de ambas, sobretudo em altas doses, é a toxicidade urotelial. Nessa categoria de efeitos colaterais, destaca-se a cistite hemorrágica (KIMURA, 1998; GWEON & SHANBERG, 1997; FOAD, 1976).

Cistite hemorrágica (CH) é definida como uma condição patológica caracterizada por inflamação vesical aguda ou insidiosa, associada a sangramento vesical, de intensidade variável. Os fatores etiológicos da CH variam desde radiações ionizantes, agentes químicos, agentes imunes e agentes biológicos, até causas idiopáticas. No que diz respeito aos agentes químicos, destacam-se os alquilantes (oxazafosforinas), os inseticidas, a anilina, os corantes derivados da toluidina e a violeta de genciana. Os vírus da influenza e o adenovírus, bem como agentes imunes, como penicilinas, são agentes potenciais dessa afecção. Apesar da variedade etiológica, a radioterapia e a quimioterapia são responsáveis pela grande maioria de hemorragias vesicais severas (DeVRIES & FREIHA, 1990).

Pouco tempo após a introdução da ciclofosfamida, como agente antineoplásico, em 1958, já se começou a notar sua urotoxicidade, expressada, clinicamente, através de sintomas miccionais, dentre os quais vale destacar a disúria, a polaciúria, a urgência urinária e a hematúria macrosscópica e microscópica. Posteriormente, observações demonstraram que outras oxazafosforinas tinham efeito similar (DeVRIES & FREIHA, 1990).

Usualmente, a hemorragia tem início durante ou imediatamente após o tratamento quimioterápico, de tal sorte que a hemorragia tardia só é observada nos casos de uso prolongado de agentes alquilantes, como é o caso da ciclofosfamida em doenças do colágeno, dentre outras. Já efeitos tardios, como fibrose e tumor vesicais secundários, necessitam longos períodos para se formar, sendo vistos apenas meses ou anos após o uso do agente antineoplásico (DeVRIES & FREIHA, 1990).

Algumas séries, até pouco tempo, registravam uma incidência de CH de até 68%, bem como uma mortalidade, nos casos de hemorragias severas, de 4% (BURKET, 1983; PYERITZ et al, 1978). Atualmente, somente com a utilização de doses tão elevadas, quanto às necessárias no condicionamento dos pacientes em regime de transplante de medula, pode-se observar percentuais próximos a estes (EFROS et al., 1994). Há ainda uma clara associação entre o uso prolongado de ciclofosfamida ou ifosfamida e o desenvolvimento, tardiamente, de tumores uroteliais, particularmente os vesicais. (CALABRESI & CHABNER, 1992; LEVINE & JARRARD, 1984).

1.1.3.2 Fisiopatologia

A urotoxicidade desses agentes alquilantes é ocasionada sobretudo pela acroleína (BROCK & STEKAR, 1979), um aldeído insaturado, altamente reativo, resultante do metabolismo das oxazafosforinas (RUSSO, 2000). Esse metabólito reage, rapidamente, com compostos intracelulares, particularmente com a glutathione (KEHRER & BISWAL, 2000), cujo papel é de citoprotetora. Essa última interação exemplifica um dos possíveis mecanismos da toxicidade da acroleína. Adicionalmente, na sua ação tóxica, a acroleína, além de favorecer a geração de radicais de oxigênio, como ânion superóxido e radical hidroxil, ainda é capaz de iniciar a peroxidação lipídica (ADAMS & KLAIDMAN, 1993). A exposição à acroleína, também causa interferências nos mecanismos imunes e inflamatórios (LI et al., 1999; NGUYEN et al., 2001).

Particularmente, em relação à IFS, há, na literatura, indícios de que a urotoxicidade vesical, resultante do uso dessa droga, possa ser multifatorial, resultando não só da ação da acroleína, como também da ação de 4-OH-IF e do cloroacetaldeído (WAGNER et al., 1981; COLVIN, 1982; NORPOTH, 1976). O cloroacetaldeído (CAA) também está envolvido com a nefrotoxicidade associada à lesão tubular renal (KUROWSKI & WAGNER, 1997; ZAMLAUSKI & TUCKER, 1994; MONCRIEFF & FOOT, 1989). A possibilidade de que a 4-OH-IF possa contribuir, diretamente, com os efeitos urotóxicos, decorre da observação de que sua concentração na urina é 50 vezes maior do que sua concentração plasmática (WAGNER et al., 1981).

O dano urotelial inicia-se com o contato direto da acroleína com a superfície urotelial. Assim sendo, devido à sua função de reservatório que propicia um contato prolongado entre a acroleína e a mucosa vesical, a bexiga é o sítio anatômico mais afetado pela toxicidade da acroleína (LEVINE & JARRARD, 1984).

As alterações histológicas se iniciam cerca de 4 horas após a administração da IFS, e os danos progridem até 36 horas, após uma dose única. Ao final desse período, segue-se uma fase em que predominam os fenômenos relacionados à regeneração, cujo início ocorre com a hiperplasia mucosa e a proliferação papilar (DeVRIES & FREIHA, 1990).

As observações feitas à microscopia eletrônica, em bexigas de ratos com lesão induzida por CFS, indicam que a agressão primária dos agentes urotóxicos parece envolver, inicialmente, a membrana citoplasmática apical, sendo o complexo unitivo lesado secundariamente (HICKS, 1966; LEESON, 1962; THEMANN et al., 1987). As alterações que ocorrem nas células superficiais incluem degeneração hidrópica com vacuolização de mitocôndrias, reorientação dos tonofilamentos apicais e desintegração do citoplasma. O acentuado edema intercelular e a reduzida coesão celular, resultante da desintegração dos desmossomas, causam, durante as primeiras 6 horas após a administração de CFS, progressiva descamação das células epiteliais degeneradas, resultando na exposição da membrana basal. O escape dos agentes nocivos para o espaço intercelular das camadas mais profundas decorre de ruptura de membrana nas células superficiais (BROCK, POHL & STEKAR, 1981). Os núcleos de muitas células epiteliais exibem marginação da cromatina e pequenos grânulos centrais, que são sinais de lesão do DNA (FUKUSHIMA et al., 1981). A membrana basal, nas áreas desnudas, mostra-se, por sua vez, alterada e os capilares subepiteliais apresentam alterações endoteliais mais severas do que as registradas naqueles situados sob membrana basal que ainda contém urotélio íntegro. As alterações endoteliais envolvem tanto capilares quanto vênulas, enquanto que o endotélio arteriolar encontra-se menos afetado.

1.1.3.3 Quadro Clínico

A apresentação clínica da CH, que se segue ao uso de oxazafosforinas, inclui uma variedade de sinais e sintomas que vão desde hematúria microscópica, presente em pacientes assintomáticos, até episódios recorrentes de hematúria maciça, associada à disúria, à hipertermia, à dor suprapúbica, à incontinência urinária e à noctúria, as duas últimas decorrentes da diminuição da capacidade vesical, por espasmo do músculo detrussor da bexiga (DeVRIES & FREIHA, 1990; STILLWELL & BENSON, 1988).

Em casos severos, o processo inflamatório pode evoluir para necrose de todas as camadas da parede, com perfuração vesical secundária (STILLWELL & BENSON, 1988, DeVRIES & FREIHA, 1990). O risco de hemorragia é dose-dependente e os pacientes que

por ventura estejam desidratados ou recebendo tratamentos intravenosos, ao invés de orais, têm um risco aumentado de desenvolver cistite (DeVRIES & FREIHA, 1990).

1.1.3.4 Diagnóstico

O diagnóstico é sugerido pelo quadro clínico, obtendo-se sua confirmação pela cistoscopia, seguida de biópsia. Macroscopicamente, ou seja, ao se verificar, cirurgicamente ou em necropsias, nas bexigas com CH completamente desenvolvida, observa-se hiperemia e edema acentuados, áreas de hemorragia puntiformes, erosões e úlceras, podendo haver, inclusive, urina hemática e coágulos intravesicais. Pode ocorrer também hemorragia ureteral, se houver obstrução do colo vesical (THEMANN et al., 1987). O aspecto endoscópico inicial, ou seja, aquele observado através da cistoscopia, nas primeiras horas após a administração de ciclofosfamida ou ifosfamida, caracteriza-se por edema urotelial, com múltiplos pontos de telangiectasia ou pontos hemorrágicos discretos. Posteriormente, ou seja, dias após a IFS, nota-se a existência de telangiectasias difusas e redução da capacidade vesical, além de trabeculações da parede da bexiga.

Histologicamente, os achados iniciais são edema, erosão, congestão e hemorragia. Mais tardiamente, ao se analisar à microscopia óptica, observa-se alterações teciduais vesicais que abrangem desde descamação quase completa do urotélio, úlceras, edema subepitelial severo e infiltrado leucocitário, depósito de fibrina e hemorragia (STILLWELL & BENSON, 1988; GRAY et al., 1986).

1.1.3.5 Tratamento

Ao longo dos anos, vários métodos terapêuticos têm sido empregados, tanto no tratamento, quanto na prevenção da CH. Naturalmente que a prevenção, efetuada de várias maneiras, ainda é a forma mais eficiente, fundamentada, essencialmente, na neutralização ou detoxificação da acroleína (STILLWELL & BENSON, 1988). Um exemplo de prevenção reside na manutenção de uma diurese volumosa, de modo a diminuir as concentrações dos metabólitos tóxicos na bexiga (DROLLER, SARAL & SANTOS, 1982). Dessa forma, atribui-se à hidratação combinada com micções freqüentes e cateterismos vesicais, a redução dos efeitos urotóxicos da acroleína. No que diz respeito a essa última modalidade terapêutica, há alguma controvérsia quanto à sua eficiência, uma vez que o uso de cateteres

uretrais para remover os metabólitos e deixar a bexiga em repouso, pode provocar espasmo e impedir a eliminação de coágulos (FRAISER, KANEKAL & KEHRER, 1991).

A hematúria da CH pode ser dividida em 3 categorias, de acordo com a severidade do sangramento, de tal sorte que a intensidade do tratamento será diretamente proporcional à categorização do episódio. As três categorias são: leve, moderada e severa. A leve não produz um decréscimo agudo no hematócrito, de tal maneira que pode ser controlada com medidas simples, tais como hidratação e irrigação vesical, dentre outras (DeVRIES & FREIHA, 1990). Quanto à categoria seguinte, a moderada, reúne os casos em que se produz um decréscimo do hematócrito no curso de dias e, para manter a estabilidade hemodinâmica, requer transfusão de 1 a 6 unidades de hemácias. Esses casos necessitam de medidas mais arrojadas e, em algumas circunstâncias, podem carecer até mesmo de instilação intravesical de substância como a formalina. (DeVRIES & FREIHA, 1990). Por último, vem a categoria das hematúrias severas, definida como aquelas refratárias a simples irrigações, instilações ou ácido aminocapróico, que requerem mais de seis unidades de concentrados de hemácias, cujo controle implica a utilização de procedimentos mais complexos, como será citado mais adiante (DeVRIES & FREIHA, 1990).

Uma vez ocorrendo complicações vesicais, a terapia com ciclofosfamida ou ifosfamida deve ser descontinuada (PEDERSEN-BJERGAARD et al., 1988). Nos casos de leve intensidade, o tratamento conservador, com cuidado para assegurar uma excelente diurese, é, com freqüência, adequado. A medida que se trata de casos de maior intensidade de aparecimento dos sintomas e sinais próprios da CH, aumenta a complexidade das ações terapêuticas necessárias para o controle dessa afecção. Assim é que, mesmo em casos de média gravidade, não é incomum a necessidade de infusão de hemoderivados. Já naqueles em que o quadro clínico se apresenta de forma severa, procedimentos mais elaborados e, naturalmente, mais mórbidos, estão indicados (DeVRIES & FREIHA, 1990). A tentativa de realizar cistoscopia, evacuar os coágulos intravesicais e realizar eletrocauterização com bisturi, deve ser o primeiro recurso terapêutico a ser adotado, após os procedimentos conservadores, embora seja, na maioria das vezes, infrutífero. É bem verdade que, mais recentemente, melhores resultados têm sido obtidos com a substituição da diatermocausterização por cauterização a *laser* (GWEON & SHANBERG, 1997).

Quando todas as medidas apresentadas anteriormente não surtirem êxito no controle da hemorragia, a mais letal manifestação da CH, lança-se mão de procedimentos terapêuticos bastante mórbidos ou complexos e, por vezes, de resultados duvidosos. É assim que, em determinados casos de hemorragia importante, é indicada a irrigação vesical, com

solução de formol a 0.37% ou 0.74%. Durante 10 minutos, mantém-se, intravesicalmente, a solução em questão, de tal maneira que se consegue sustar o sangramento em cerca de 85% dos casos (KLEIN et al., 1984). Nos casos em que, mesmo assim, não sejam contidas as hemorragias, faz-se necessária a abordagem cirúrgica, cujas alternativas podem ser, desde a ligadura das artérias hipogástricas e a derivação ureteral, até, em casos extremos, a cistectomia (ELIAS et al., 1990; DeVRIES & FREIHA, 1990).

1.1.4 PAPEL DO MESNA E OUTROS TIÓIS NA PREVENÇÃO DA CISTITE HEMORRÁGICA INDUZIDA POR IFOSFAMIDA.

Ainda objetivando proporcionar uma profilaxia da CH, utilizando para tanto as informações disponíveis sobre a reatividade química dos metabólitos urotóxicos das oxazafosforinas, diversas pesquisas conduziram aos estudos dos tiocompostos como agentes detoxificantes regionais (BROCK et al., 1984). Entretanto, os referidos estudos, em que pese o empenho da comunidade de pesquisadores, obtiveram pouco êxito na descoberta de compostos efetivos. Uma das razões do acontecimento, diz respeito ao fato de os tiocompostos testados não serem eliminados por via renal, em tempo suficientemente rápido para detoxificar os metabólitos tóxicos das oxazafosforinas presentes na urina. Destarte, apenas duas drogas, N-acetilcisteína (Mucomyst) e 2-mercaptoetano sulfonato (Mesna), por reagirem com a acroleína, através de dupla ligação de carbono, formando tio-ésteres estáveis não-urotóxicos, passaram a ser mais utilizadas nos estudos científicos (WAGNER, 1994; BROCK & POHL, 1983; SCHEULEN et al., 1983; BROCK et al., 1981).

Após a administração, já no plasma, o MESNA é rápida e irreversivelmente oxidado e, em poucos minutos, transforma-se, através de dimerização, em um dissulfito, chamado DIMESNA. O MESNA e DIMESNA, por serem hidrofílicos, permanecem na circulação. O DÍMESNA, resultante da conversão do MESNA ainda na circulação, sofre a passagem hepática sem mudanças (GOREN et al., 1998), é filtrado pelo rim e reabsorvido pelos túbulos proximais. É nesse sítio anatômico onde, através da ação da glutathione intracelular, ocorre a redução de DIMESNA em MESNA. A seguir, o MESNA é secretado no lúmen tubular, momento em que os seus grupos sulfidrilas combinam-se diretamente com os metabólitos urotóxicos da IFS e CFS (MORHMANN et al., 1994).

Uma característica do MESNA a merecer destaque é que ele se liga à acroleína, o mais urotóxico dos metabólitos da IFS e da CFS, sem afetar o efeito terapêutico dos agentes alquilantes (EHRLICH et al., 1984). Esta interação entre a acroleína e o MESNA, resulta em

um composto inativo (WAGNER, 1994), sendo portanto, indicado para prevenir a ocorrência de CH, deixando de ser útil quando a lesão já está estabelecida. (GOREN et al., 1998).

É, sobretudo, devido às suas solubilidades, que o MESNA e o DIMESNA são rapidamente excretados pelo rim, fato que explica suas curtas meias-vidas, obrigando a repetição de suas doses, quando se deseja obter uroproteção no uso de oxafosforinas (BROCK, 1981). No caso do MESNA, a meia-vida plasmática é de apenas 1,5 hora (PEDERSEN-BJERGAARD et al., 1988). Assim, administrado em bolus, imediatamente antes da CFS ou IFS, a dose inicial do MESNA deve ser de 20% da dose da oxazafosforina, seguida de doses semelhantes após 2 e 6 horas, no caso de administração por via oral, ou após 4 e 8 horas, quando se tratar de administração intravenosa (GOREN et al., 1997; KATZ et al., 1995).

Em estudos pré-clínicos padrões, o MESNA demonstrou baixa toxicidade aguda e crônica, não apresentando teratogenicidade ou mutagenicidade. Igualmente, na prática clínica, o MESNA revelou-se com baixa toxicidade, sendo observados discretos efeitos colaterais, incluindo diarreia, cefaléia e dores nos membros inferiores (BATISTA, 2002).

Quanto à N-acetil cisteína, a droga que por muito tempo constituiu uma esperança para detoxicar os metabólitos das oxazafosforinas, pode ser administrada via sistêmica (oral, parenteral) ou local (intravesical). Quando administrada, sistemicamente, a N-acetil cisteína reduz as atividades antineoplásica e imunossupressora das oxazofosforinas. Quanto à segunda forma de administrá-la, ou seja, como irrigante intravesical, além de ser incômoda, tem um custo financeiro expressivo (RUSSO, 2000), razões para seu completo desuso terapêutico na CH. Por outro lado, o MESNA, que é absorvido pelas células tumorais em menor proporção que outros tióis (acetilcisteína, glutatona), não altera a atividade terapêutica dos antineoplásicos IFS e CFS (GOREN, 1992).

**1.2. DEXAMETASONA: DA EXPERIMENTAÇÃO
EM MODELOS ANIMAIS AO PRIMEIRO
ENSAIO CLÍNICO (BASE RACIONAL DESTA
PESQUISA)**

1.2.1 DEXAMETASONA

Devido ao fato dos glicorticóides representarem a classe de drogas mais efetivas e de ação mais ampla na terapêutica das doenças inflamatórias, bem como em razão do respaldo obtido a partir dos ensaios experimentais realizados pelo LAFICA (Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer), adotou-se a dexametasona, um dos mais potentes componentes deste grupo, como droga padrão no estudo da inibição do processo inflamatório da CH.

A hidrocortisona é o protótipo dos glicorticóides; sua estrutura básica é a mesma de todos os esteróides, caracterizando-se pelo núcleo ciclopentassoperidrofenantreno, bem como pela presença de uma hidroxila na posição 11-beta, essencial à atividade glicorticóide. Alterações nas moléculas da hidrocortisona e da cortisona deram origem aos compostos denominados de análogos sintéticos, com propriedades farmacológicas e farmacodinâmicas diferentes, mais potentes como antiinflamatórios, e com menor capacidade de retenção de sódio. Foi dessa maneira que resultou a dexametasona, 30 vezes mais potente que a hidrocortisona e com atividade mineralcorticóide quase nula (MACEDO & OLIVEIRA, 2002)

O receptor para glicorticóide é uma fosfoproteína com 77 aminoácidos, peso molecular de quase 94.000 dáltons. Possui dois domínios básicos: a porção carboxi-terminal, em que se liga o hormônio, e o domínio de ligação com regiões específicas do DNA. Os glicorticóides atravessam as membranas celulares, por difusão, ligam-se ao receptor, formando um complexo citoplasmático que se altera conformacionalmente. O complexo penetra no núcleo da célula, e parte do receptor se liga com uma porção específica do genoma, regulando a transcrição de RNA, por alteração na atividade do gene promotor. As seqüências específicas de nucleotídeos são conhecidas como elementos de resposta dos glicorticóides (MACEDO & OLIVEIRA, 2002; BARNES & ADCOCK, 1993).

Em que pese a ação exata dos corticosteróides, no que diz respeito ao seu papel antiinflamatório ainda não estar plenamente elucidado, diversos mecanismos para explicar sua atuação supressiva foram propostos (FORSYTH&TALBOT, 1992), dentre os quais se inclui a síntese de proteínas, cujas ações guardam relação com a supressão dos fenômenos inflamatórios. Entre tais proteínas encontram-se a lipocortina-1, a interleucina-10, o antagonista do receptor para interleucina-1 e as endopeptidases (GOULDING et al.,1990; CIRINO&FLOWER, 1987). Dessa forma, a inibição da síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, resulta em uma diminuição da migração leucocitária para a área

inflamatória (SCHLEIMER, 1990; MANCUSO, 1995). A lipocortina-1 é, também, *in vitro*, a responsável pela liberação de PGE₂ pelos macrófagos (FERREIRA et al., 1997), fato que explica, em parte, a ação antianalgésica.

Seguramente, a ação mais conhecida dos glicorticóides diz respeito à inibição da produção dos derivados do ácido aracdônico (AA) e de eicosanóides, pelas vias das enzimas cicloxigenase e da lipoxigenase. O mecanismo está relacionado à indução da formação da proteína citada anteriormente, denominada lipocortina-1, de peso molecular igual a 37 kDa, a qual é termo-estável, ácido resistente, cálcio-dependente, tripsina sensível e que é inibitória da fosfolipase A₂. Assim é que parte da interferência dos glicorticóides na ação leucocitária se dá através da inibição da produção de LTB₄, um dos mais potentes agentes quimiotáticos. Entre outras ações, O LTB₄ aumenta a produção de radicais livres e enzimas lisossômicas pelos neutrófilos e eosinófilos; além disso, como vasodilatador, é 100 a 1000 vezes mais potente que a histamina, provavelmente em razão da sua ação direta nas células endoteliais (BARNES, 1998; BARNES, 1993; BUTTERFIELD & GLEICH, 1989; BARNES et al., 1988).

Os glicorticóides têm, ainda, um potente efeito inibitório na síntese de diversas citocinas, incluindo IL-1, IL-2, IL-3, IL-8, TNF- α , interferon- γ e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (BARNES, 1998; AUPHAN et al., 1995; BARNES & ADCOCK, 1993; WAAGE et al., 1990). Esse efeito inibitório guarda relação com a interação dos glicorticóides e fatores de transcrição ativados, a saber: o fator nuclear Kappa B (NF- κ B) e o fator ativador da proteína-1 (AP-1). Essas citocinas, dentre suas atuações, estimulam a produção de moléculas de adesão, as quais são fundamentais no processo de migração unidirecional dos leucócitos do sangue periférico, para o sítio inflamatório (ROCHA et al., 1998; ZIMMERMAN et al., 1992).

Além do destacado papel na inflamação, tanto a IL-1 quanto a IL-8 produzem hiperalgesia, a primeira por um mecanismo que envolve a participação dos derivados do AA, pela via da cicloxigenase, a segunda por um mecanismo prostaglandina-independente, cujo estudo experimental sugere existir a participação do sistema nervoso simpático (CUNHA et al., 1991).

O TNF α , conhecido inicialmente como caquectina, face à sua propriedade de desenvolver um intenso consumo calórico-protéico, é produzido por macrófagos ativados, monócitos e fibroblastos, em resposta a lipolissacarídeos (LPS) bacterianos, células tumorais e bactérias (OLD, 1985). Outras funções importantes do TNF α são: estimular o linfócito T

a produzir citocinas; aumentar a expressão de receptores de IL-2; incrementar a produção de linfócitos B e, conseqüentemente, de plasmócitos e anticorpos (OLD, 1985).

O fator de agregação plaquetária (PAF) é um éter-fosfolípido, formado a partir de um lipídio complexo, armazenado na forma de um precursor nas membranas citoplasmáticas, através da acetilação catalisada pela acetiltransferase. Sua formação pode ser inibida por antagonistas da fosfolipase A₂, como o são os corticosteróides (ALBERT, 1983). O PAF é um importante mediador inflamatório, atuando através de diversos mecanismos, dentre os quais podem ser citados: a ativação plaquetária, resultando tanto na agregação quanto na liberação de fatores pró-inflamatórios; a indução de migração leucocitária; e a formação de superóxidos (BRAQUET, 1987).

O óxido nítrico (NO), por sua vez, é um radical livre em forma de gás, envolvido com uma multiplicidade de fenômenos fisiológicos e patológicos, dentre os quais merece destaque a sua participação no mecanismo da inflamação (DAVIS et al., 2001).

O NO é formado a partir do aminoácido L-arginina, através da ação da enzima óxido nítrico sintetase (NOS). A reação catalisada pela NOS requer, além do substrato L-arginina, oxigênio molecular, NADPH e outros cofatores como a tetrahydrobiopterina, FMN, FAD e heme para resultar produção de NO e citrulina (MARLETTA, 1994). Esta enzima se apresenta em três isoformas, codificadas por distintos genes, e está presente em diversos tecidos. A primeira isoforma, NOS-1, também conhecida como NOS neuronal ou tipo I, está associada aos efeitos relacionados à neurotransmissão. Uma outra isoforma é a NOS-2 ou tipo II, conhecida ainda como NOS macrófágica ou induzida, originalmente identificada em macrófago, e que se encontra presente em uma variedade de células, incluindo hepatócitos, células de músculo liso, fibroblastos e células epiteliais. Uma última isoforma é a NOS-3, denominada de NOS endotelial ou tipo III. Esta forma é responsável pela ação vasodilatadora do NO (DAVIS et al., 2001).

Ainda do ponto de vista didático e funcional, a NOS pode ser agrupada sob duas categorias ou formas: uma, denominada de constitutiva (NOS-1 E NOS-3), que é citosólica, cálcio-calmodulina dependente e que promove uma liberação de NO, por um curto período e em pequena quantidade, em resposta a um estímulo específico. Liberado desta forma, o NO age diretamente ou, principalmente, como segundo mensageiro, em diversos mecanismos fisiológicos, dentre os quais o controle homeostático do fluxo coronariano. O outro subtipo enzimático (NOS-2) tem sua produção induzida após a ativação dos macrófagos, células endoteliais e por algumas citocinas pró-inflamatórias e toxinas. Dentre estas citocinas, merece citação a interleucina-1, o IFN- γ e o TNF- α (DAVIS, 2001). O estímulo do NO, por

esta via, é duradouro e cálcio-calmodulina independente; a enzima é citosólica, necessita de um co-fator e é inibida por corticosteróides. O NO, produzido dessa maneira, age, sobretudo, de forma indireta (DAVID et al., 2001; MONCADA et al., 1991).

Adicionalmente às suas funções fisiológicas, o NO está envolvido na patogênese de muitas doenças inflamatórias, incluindo a artrite reumatóide, a miocardite, a colite e a nefrite, além de outras patologias como a esclerose lateral amiotrófica, o câncer, o diabetes e algumas doenças neurodegenerativas (DAVID et al., 2001; JANG & MURRELL, 1998; SCHULTZ et al., 1997).

Em suma, as ações potenciais do NO são diversas e dependem de vários fatores. Assim é que o sítio e a fonte de produção, bem como as concentrações teciduais de NO, coletivamente determinam se o NO irá produzir efeitos diretos ou indiretos, fisiológicos ou patológicos. Quanto aos efeitos patológicos, na sua produção estão envolvidos fenômenos que vão desde a inibição das enzimas ribonucleotídeos redutases, regulação das atividades da ciclooxygenase, da lipoxigenase, do citocromo P-450, até modificações do DNA (DAVID et al., 2001).

1.2.2 BASE CIENTÍFICA EXPERIMENTAL PARA O ENSAIO CLÍNICO

O Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA), do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, tem se dedicado, nos últimos anos, ao estudo dos mediadores inflamatórios envolvidos nas lesões desencadeadas pelo uso de agentes antitumorais. Entre as linhas de pesquisas desenvolvidas, os destaques vão para a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida; para as mucosites, oral e intestinal, induzidas por agentes antimetabólitos; e para a cardiotoxicidade induzida por doxorubicina. Nesse sentido, vários estudos experimentais foram sistematizados, voltando-se para a busca de conhecimentos relativos à patogênese da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. Os resultados das observações sistematizadas que foram levadas a efeito serviram de base para elaboração desta tese que, na verdade, constituiu-se no primeiro estudo clínico voltado para esse tema, realizado sob a responsabilidade daquele grupo de pesquisa.

As primeiras tentativas para elucidar questões relacionadas à patogênese da CH, vieram demonstrar o envolvimento de mediadores clássicos lipídicos, tipo prostaglandinas (PG), leucotrieno B₄ (LTB₄) e PAF, bem como de mediadores vasoativos, como a bradicinina, em eventos inflamatórios na CH. Dessa forma, constatou-se que mediadores,

tais como as PG, o LTB₄ e o PAF, estão envolvidos no aumento da permeabilidade vascular na CH; enquanto isso, o LTB₄ e o PAF têm um importante papel na infiltração de neutrófilos desse tipo particular de cistite. Dando seqüência a estes estudos, os pesquisadores concluíram que a dexametasona era capaz de inibir, de forma estatisticamente significativa, os eventos inflamatórios atrás referenciados. Esses dados foram obtidos a partir de ensaios experimentais, parte integrante do projeto que resultou na primeira dissertação de mestrado do aludido grupo de pesquisa com relação à CH (LIMA, 1994).

Posteriormente, foi constatado que as citocinas, como TNF α e IL-1, eram mediadores cruciais envolvidos nesses eventos inflamatórios mencionados anteriormente, assim como na erosão urotelial e na hemorragia. Na seqüência, ainda investigando os papéis de ambas as drogas, observou-se que inibidores seletivos (talidomida) e não seletivos (pentoxifilina) de TNF α bloqueavam, de forma parcial, mas significativa, os eventos inflamatórios da CH induzida por ciclofosfamida ou IFS (GOMES, 1995).

Posteriormente, a fim de elucidar a hipótese enunciada de que, por se tratar de uma síndrome rica em fenômenos vasculares, o óxido nítrico deveria estar envolvido, foram realizados experimentos voltados para três direções.

Como primeiro ponto, os experimentos realizados com inibidores da enzima óxido nítrico sintase, tipo L-NAME e L-NOARG, resultaram em bloqueio dos eventos inflamatórios e da lesão urotelial da CH, sendo este efeito revertido por L-arginina, mas não por seu isômero inativo D-arginina. No segundo direcionamento, observou-se que a histoquímica para NADPH-diaforase mostrava células contendo NO sintase (NOS) no urotélio de ratos do grupo controle e que tal marcação desaparecia após indução da cistite, devido à descamação urotelial, ao mesmo tempo em que surgiam células inflamatórias coradas para NOS, na lâmina própria. Em terceiro lugar, comprovou-se que a atividade da NOS constitutiva decaiu após indução da CH, em concomitância à detecção de atividade para NOS induzida na lâmina própria (SOUZA-FILHO et al., 1997).

À luz dos conhecimentos anteriores, pode-se demonstrar que o pré-tratamento com antagonista de PAF (BN52021), além de inibir os eventos inflamatórios clássicos da cistite, diminui a atividade da NOS induzida, o que levou a crer que sua liberação era mediada por PAF, via, provavelmente, indução de NOS (SOUZA-FILHO et al., 1997).

Ribeiro e colaboradores, em estudos experimentais, demonstraram que, na cascata dos mediadores envolvidos na patogênese da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, o TNF- α é liberado precocemente, induzindo a produção de outras citocinas

e a expressão de NOS induzida, levando à formação de NO, o agente lesivo final do urotélio (RIBEIRO et al., 1998; RIBEIRO et al., 2002).

Essa demonstração recente e inédita de que o óxido nítrico (NO) é o mediador final dos danos uroteliais e da hemorragia da CH, foi uma contribuição importante daquele grupo na compreensão da patogênese dessa patologia e resultou na proposição de um modelo esquemático para ilustrar a participação sequencial dos mediadores inflamatórios na CH (FIGURA 4).

Assim, acredita-se que, após metabolizada a oxazafosforina, a acroleína resultante, altamente reativa que é, uma vez em contato com a porção apical do urotélio, promove o aparecimento de fenômenos, tais como formação de radicais livres, peroxidação lipídica, diminuição da glutadiona, produzindo dano ao complexo unitivo, cujo resultado é a perda da adesividade das células uroteliais superficiais e conseqüente erosão epitelial. Isso ocorrido, a lâmina própria fica exposta à ação da acroleína e outros produtos tóxicos que, uma vez em contato com as células apresentadoras de antígenos, induzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1, TNF- α , ao mesmo tempo em que outras substâncias pró-inflamatórias estão sendo produzidas. Quanto a essas últimas relacionadas, cabem os destaques para o PAF, bradicinina, derivados do ácido aracdônico, e, principalmente para o NO (LIMA, 1994; RIBEIRO et al., 1998; RIBEIRO et al., 2002).

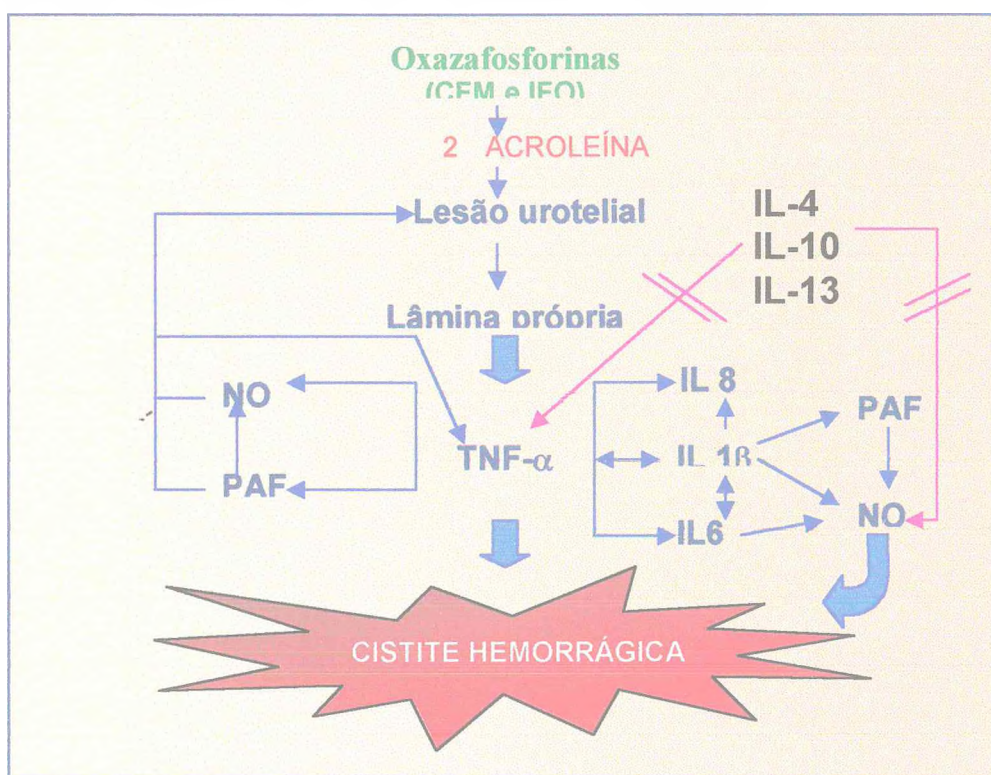


FIGURA – 4 Representação esquemática da participação de mediadores inflamatórios na patogênese da cistite hemorrágica induzida por oxazafosforinas.

Baseados no fato de que os glicocorticóides são potentes inibidores da síntese de citocinas, como TNF- α , da IL-1, do PAF e da expressão da NOS induzida (BARNES & ADCOCK, 1993), estudos experimentais foram desenvolvidos pelo Laboratório de Inflamação e Câncer do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (LAFICA), visando à avaliação, através de análise farmacológica e histopatológica, do efeito da dexametasona na cistite hemorrágica induzida pela ciclofosfamida ou ifosfamida em ratos Wistar. No caso particular do estudo pré-clínico de Moraes (2000), cujos resultados serviram de referencial experimental para a execução desse estudo clínico, animais foram submetidos à injeção intraperitoneal (i.p.) de CFS ou IFS, nas doses de 200 e 400 mg/kg, respectivamente. Os referidos animais foram tratados com MESNA, na proporção de 20% das doses de CFS ou IFS, via i.p., administradas, 4 e 8 horas após CFS ou IFS. Em outros grupos experimentais, foi substituído o MESNA por 1mg/kg de peso de dexametasona, parcialmente (uma ou duas doses) ou totalmente (três doses).

Os resultados descritos, a seguir, tiveram como base observações feitas sobre o peso úmido vesical (FIGURA 5), análise macroscópica e microscópica (TABELA 1) das bexigas de animais tratados com 200 mg/kg de peso de CFS:

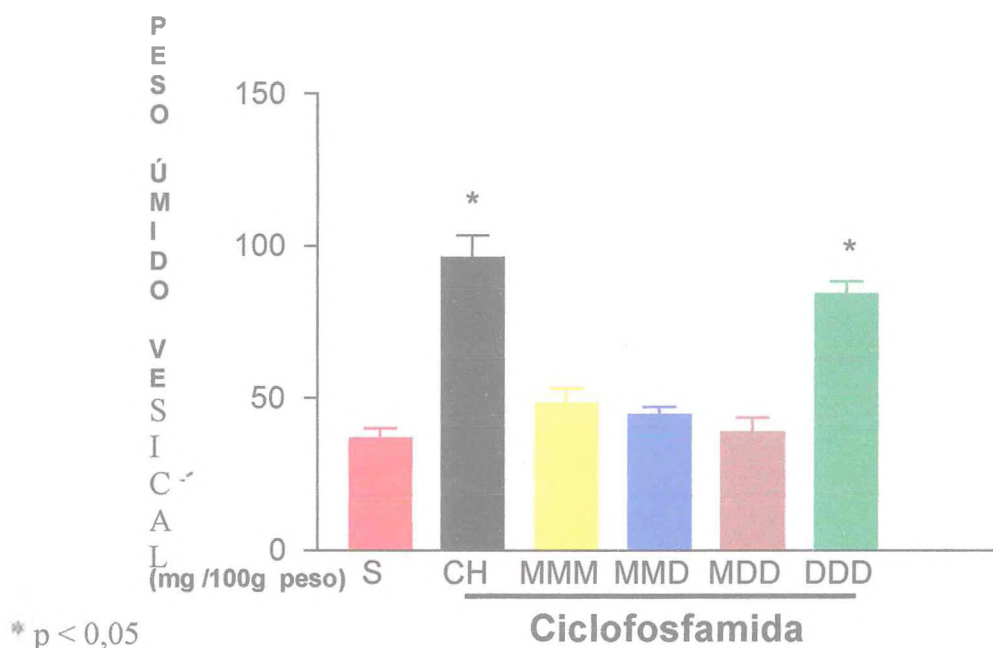


FIGURA 5 - Efeitos de esquemas terapêuticos, com MESNA e/ou dexametasona na profilaxia de cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, em ratos Wistar. Os resultados do peso úmido vesical estão expresso em mg/100g de peso do animal.

TABELA 1 - Resultado da adoção dos critérios de Gray, na análise semiquantitativa dos eventos inflamatórios, nos animais tratados com Ciclofosfamida (Resultados expressos em medianas e variação dos escores).

	<i>Análise Macroscópica (Edema)</i>	<i>Análise Macroscópica (Hemorragia)</i>	<i>Análise Microscópica</i>
Grupo S	0 (0-0) * *	0 (0-0) **	0 (0-0) **
Grupo CH	3 (2-3) *	3 (2-3) *	2 (2-2) *
Grupo MMM	0 (0-0) **	0 (0-0) **	0 (0-0) **
Grupo MMD	0 (0-0) **	0 (0-0) **	0 (0-0) **
Grupo MDD	0 (0-0) **	0 (0-0) **	0 (0-0) **
Grupo DDD	1 (0-3) *	1 (1-3) *	2 (1-2) *

Grupo S = Grupo Salina * $p < 0,05$ em relação ao grupo S; ** $p < 0,05$ em relação ao grupo CH
Grupo da Cistite Hemorrágica

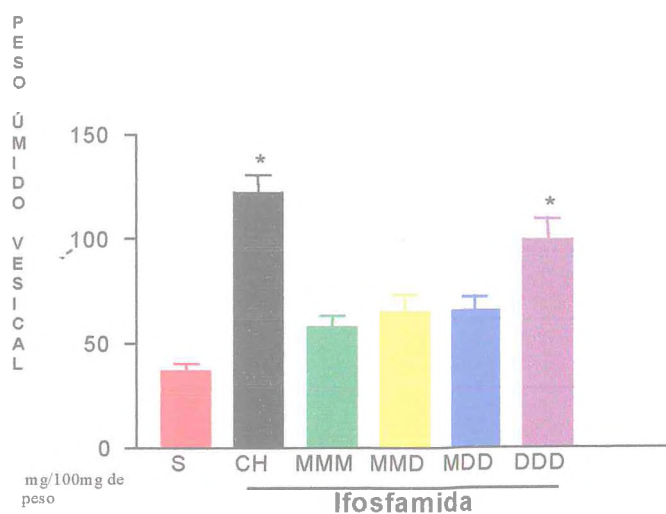
Grupo MMM = Grupo tratado com 3 doses de Mesna

Grupo MMD = Grupo tratado com 2 doses de Mesna e 1 dose de Dexametasona

Grupo MDD = Grupo tratado com 1 dose de Mesna e 2 doses de Dexametasona

Grupo DDD = Grupo tratado com 3 doses de Dexametasona

Os resultados, a seguir descritos, tiveram como base observações feitas sobre o peso úmido vesical (FIGURA 6) e análise macroscópica e microscópica (TABELA 2) das bexigas de animais tratados com 400 mg/kg de peso de IFS:



* $p < 0,05$

FIGURA 6 - Efeitos de esquemas terapêuticos, com MESNA e/ou dexametasona na profilaxia de cistite hemorrágica induzida por ifosfamida, em ratos Wistar. Os resultados do peso úmido vesical estão expresso em mg/100g de peso do animal.

TABELA 2 - Resultado da adoção dos critérios de Gray, na análise semiquantitativa dos eventos inflamatórios, nos animais tratados com Ifosfamida (Resultados expressos em medianas e variações dos escores).

	<i>Análise Macroscópica (Edema)</i>	<i>Análise Macroscópica (Hemorragia)</i>	<i>Análise Microscópica</i>
Grupo S	0 (0-0) **	0 (0-0) **	0 (0-0) **
Grupo CH	3 (2-3) *	3 (2-3) *	2 (2-2) *
Grupo MMM	0 (0-1) **	0 (0-2) **	0 (0-1) **
Grupo MMD	0.5 (0-2) **	0.5 (0-2) **	0 (0-0) **
Grupo MDD	0 (0-1) **	0 (0-1) **	0 (0-1) **
Grupo DDD	2 (1-3) *	2.5 (1-3) *	2 (2-2) *

Grupo S = Grupo Salina * $p < 0,05$ em relação ao grupo S; ** $p < 0,05$ em relação ao grupo CH

Grupo CH = Grupo da Cistite Hemorrágica

Grupo MMM = Grupo tratado com 3 doses de Mesna

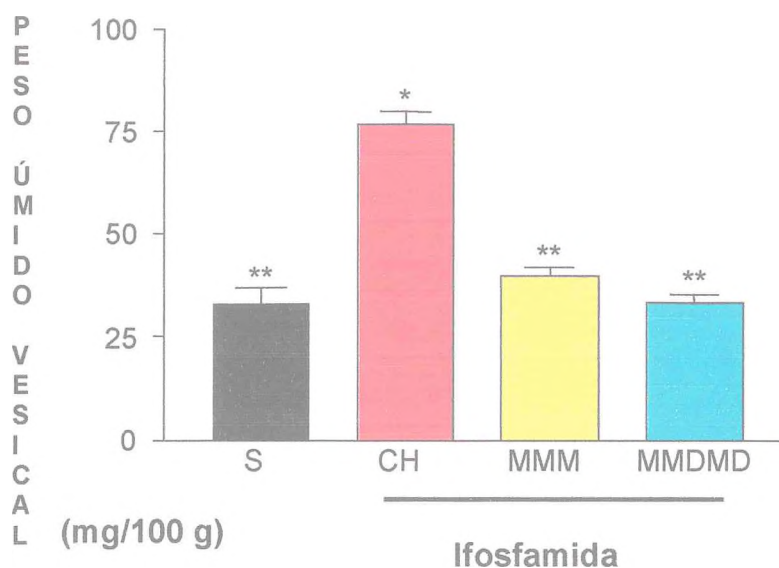
Grupo MMD = Grupo tratado com 2 doses de Mesna e 1 dose de Dexametasona

Grupo MDD = Grupo tratado com 1 dose de Mesna e 2 doses de Dexametasona

Grupo DDD = Grupo tratado com 3 doses de Dexametasona

A substituição das 3 doses do MESNA, por dexametasona, em 3 doses, embora tenha reduzido o edema, não preveniu os fenômenos hemorrágicos da CH.

Por fim, foram realizados experimentos com ratos Wistar, visando à avaliação da ação potencializadora da dexametasona, quando associada ao MESNA, na profilaxia da CH. Animais foram submetidos a aplicação de injeções intraperitoneais (i.p.) de IFS, na dose de 400 mg/kg. Os animais foram tratados com MESNA, na proporção de 20% das doses de IFS, via i.p., administradas, 4 e 8 horas após a IFS. Em outro grupo experimental, os animais foram tratados, ao mesmo tempo em que as duas últimas doses do MESNA eram administradas ip, com doses de 4mg/kg de dexametasona vo. Os resultados obtidos foram os seguintes:



* $p < 0,05$ em relação ao grupo S; ** $p < 0,05$ em relação ao grupo CH

FIGURA 7 - Efeito do MESNA, isoladamente ou em associação com dexametasona, na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. Os resultados do Peso Úmido Vesical, foram expressos em mg/100g de peso do animal.

Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre os grupos que utilizaram as três doses de MESNA e aquele em que se associou o MESNA à dexametasona, a associação dessas últimas drogas promoveu uma potencialização de 17,93% na ação preventiva de CH, quando comparada com a utilização de 3 doses de MESNA.

TABELA 3 - Resultado da adoção dos critérios de Gray, na análise semiquantitativa dos eventos inflamatórios, nos animais tratados com Ifosfamida (Resultados expressos em medianas e variações dos escores).

	<i>Análise Macroscópica (Edema)</i>	<i>Análise Macroscópica (Hemorragia)</i>	<i>Análise Microscópica (n=6)</i>
Grupo S	0 (0-0) **	0 (0-0) **	0 (0-0) **
Grupo CH	3 (2-3) *	3 (2-3) *	2 (1-2) *
Grupo MMM	0 (0-1) **	0 (0-1) **	0 (0-1) **
Grupo MMDMD	0 (0-0) *	0 (0-0) *	0 (0-0) *

Grupo S = Grupo Salina

* $p < 0,05$ em relação ao grupo S; ** $p < 0,05$ em relação ao grupo CH

Grupo CH = Grupo da Cistite Hemorrágica

Grupo MMM = Grupo tratado com 3 doses de MESNA

Grupo MMDMD = Grupo tratado com 1 doses de Mesna e 2 doses de MESNA + Dexametasona

Mais uma vez, conforme se pode observar (TABELA 3), no que diz respeito ao peso vesical úmido, a associação de dexametasona com MESNA, evitou o desencadeamento de eventos inflamatórios, macroscópicos e microscópicos, de forma mais consistente que aqueles observados no grupo em que foram utilizadas três doses de MESNA, muito embora não se tenha alcançado uma diferença estatisticamente significativa.

Finalmente, após tudo o que foi exposto anteriormente e que constituiu a base racional deste trabalho experimental, o grupo do LAFICA, com a participação do ICC, decidiu iniciar este trabalho, que, para eles, teve a primazia de transpor o campo da experimentação para o da pesquisa clínica.

2. OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste ensaio clínico, tendo como base os dados obtidos experimentalmente e já expostos de forma preliminar, foi avaliar, comparativamente, os efeitos uroprotetores do esquema terapêutico padrão de MESNA, composto de três doses, versus aqueles de dois esquemas propostos, nos quais se utilizou a dexametasona em substituição ou associação às duas últimas doses do MESNA, na profilaxia da cistite hemorrágica, em pacientes portadores de câncer e submetidos à quimioterapia à base de ifosfamida.

Concomitantemente, e não com menor importância, o trabalho objetivou, secundariamente, propor um modelo clínico simples e objetivo para o desenvolvimento de estudos clínicos na área de urotoxicidade vesical, ocasionada por ifosfamida.

3. METODOLOGIA

3.1 SELEÇÃO DE PACIENTES

Foram convidados a participar do ensaio, pacientes portadores de tumor pulmonar, sarcoma e tumor germinativo testicular, dentre aqueles que iriam ser submetidos à quimioterapia, no Serviço de Oncologia Clínica do ICC.

3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos todos os pacientes que consentiram, previamente, em participar da pesquisa e que tinham sido selecionados para tratamento com ifosfamida, tanto em caráter curativo quanto paliativo, independentemente do sexo, da raça, da idade e do estadiamento, cujos protocolos de quimioterapia incluíam dose diária de ifosfamida igual ou superior a 1,8 g por metro quadrado. Vale ressaltar que todos os esquemas deveriam contemplar um mínimo de três, e um máximo de quatro dias de tratamento por ciclo.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Constituiu-se objeto de exclusão da pesquisa: paciente cujos escores da escala de desempenho de Karnofsky foram iguais ou inferiores a 40 (ANEXO I); também pacientes submetidos a tratamento prévio com ciclofosfamida, ifosfamida ou corticosteróides nas últimas quatro semanas; e, ainda, portadores de quaisquer patologias do trato urinário, bem assim os submetidos à radioterapia pélvica.

Por fim, mesmo depois de selecionados, foram excluídos os pacientes cujos exames laboratoriais de hemograma, creatinina e sumário de urina não apresentaram resultados dentro dos limites dos valores normais.

3.4 CRITÉRIOS DE INTERRUPÇÃO DO TRATAMENTO

A interrupção deveria ocorrer em todos os pacientes que desenvolvessem cistite hemorrágica, efeitos indesejáveis moderados ou severos, referentes ao uso da dexametasona e complicações resultantes da cistoscopia (sangramentos moderados, severos ou infecções); a interrupção alcançaria, também, os que apresentassem resultados anormais nos testes laboratoriais, desde que considerados de relevância clínica, bem assim os que tivessem desistido de participar da pesquisa:

3.5 TERMO DE CONSENTIMENTO

O projeto foi apreciado pelo Conselho de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (COMPEPE), para fins de emissão de parecer. A seguir, o dito parecer foi referendado pelo Diretor de Ensino e Pesquisa e pelo Diretor-Geral, ambos do Instituto de Câncer do Ceará. Assim, como o respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos indivíduos envolvidos, os pacientes foram esclarecidos, mediante uma linguagem acessível, sobre os objetivos do estudo, os procedimentos utilizados, bem como os desconfortos, riscos possíveis e benefícios esperados. Coube a pelo menos um dos três médicos envolvidos nesse estudo, apresentar, oportunamente, aos pacientes, o Termo de Consentimento (Anexo II) atrás referenciado.

3.6 APARELHOS E INSTRUMENTOS LABORATORIAIS

- Aparelho de televisão (SONY) triniton, modelo KV-21B80, série 3014510.
- Câmera de vídeo (KARL STORZ) modelo endovision XL, referência EKP025577.
- Centrífuga (HETTICH), modelo universal II.
- Cistoscópio (KARL STORZ) com camisa nº 19 de referência 27026D; ótica 30° de referência 27005 BA e ponte de referência 27068 D.
- Corador automático de lâminas (MICROM), modelo NS50.
- Fonte de luz de xenônio (KARL STORZ), número de série EK6540.
- Inclusor de tecidos (LEICA), modelo EG-1160.
- Microscópio ótico (NIKON), modelo YS2-H.
- Microscópio ótico (OLIMPUS), modelo LI100A.
- Micrótomos (LEICA), modelos RN-2145 e RN2025.
- Pinça de biópsia endoscópica (KARL STORZ) 7 FR, de referência 27177 ACE.
- Processador de tecidos humanos (LEICA), modelo TP-1020.
- Sistema de captura de imagens microscópicas com câmara (SONY), modelo SSC-C374, série 22651.
- Vídeo Cassete (SONY) modelo SLV-66Br, série 5512685.
- Criostato (LEICA), modelo CM 1850.

3.7 DROGAS, SOLUÇÕES, LÍQUIDOS E CORANTES.

- Água destilada.
- Dexametasona (DECADRON – Prodrome Química & Farmacêutica Ltda., São Paulo, Brasil): comprimidos de quatro mg.
- Doxorrubicina (ADRIBLASTINA – Pharmacia, Austrália): frasco-ampola de 10 e 50mg.
- Eosina (EOSINA – Merck, Alemanha): frasco de 25 g de pó.
- Fitas reagentes de urinálise (TECO DIAGNOSTICS), referência URS-10.
- Formol a 35% (FORMOL CONCENTRADO – Reagen, Brasil): frasco de 1000 ml.
- Hematoxilina (HEMATOXILINA – Reagen, Brasil): frasco de 25 g de pó.
- Ifosfamida (HOLOXANE – Asta médica, Frankfurt, Alemanha): frasco-ampola de 1 mg.
- Mesna (MITEXAN – Asta Médica, AG Frankfurt, Alemanha): comprimidos de 400 e 600 mg.
- VP-16 (VEPESIDE – Bristol, Estados Unidos): frasco-ampola de 100 mg.
- Lidocaína (XYLESTESIN – Cristália): bisnaga de 30g contendo geléia a 2%.

3.8 PROTOCOLO CLÍNICO

3.8.1 ADMINISTRAÇÃO DAS DROGAS

Um grupo constituído pelos 18 primeiros pacientes, candidatos ao uso de quimioterapia com ifosfamida, e que preenchiam todos os critérios de inclusão neste estudo, foi denominado de grupo de referência. Todos eles, antes de iniciados os esquemas quimioterápicos propostos, realizaram exame sumário de urina e foram submetidos à cistoscopia e à biópsia vesical. Completado o número de pacientes de que necessitava o grupo de referência, o estudo além de duplo cego, passou a ter as divisões dos pacientes realizadas aleatoriamente. Esses pacientes, bem assim os novos, foram divididos, ao acaso, entre três grupos, cada um contendo 15 participantes, à exceção do grupo MDD, em que foram incluídos somente 12 pacientes. Essa decisão deveu-se ao fato de ter sido observada, quando da avaliação preliminar, menor ação uroprotetora com a profilaxia administrada aos pacientes deste grupo. Vale destacar que nenhum deles apresentou quadro clínico de cistite clínica de importância, apenas sintomas leves, tais com polaciúria e ardúria.

No primeiro grupo, denominado de MMM, os pacientes foram tratados profilaticamente com MESNA, na dose usual, ou seja, receberam injeções endovenosas rápidas, com doses iguais a 20% das doses de ifosfamida, imediatamente antes da administração desta última. Após 2 e 6 h do início da quimioterapia, foi administrado o MESNA, vo, na dose equivalente a 40% daquela de IFS. O mesmo esquema de profilaxia de cistite foi repetido a cada dia em que se administrou ifosfamida, conforme protocolos estabelecidos para os diversos tipos de tumores ou intenção terapêutica (ANEXO III). No segundo grupo, denominado MDD, foi administrada a primeira dose de MESNA, semelhante àquela do grupo anterior, porém as duas restantes foram substituídas por doses orais de 4 mg de dexametasona, 2 e 6 horas após a ifosfamida.

Finalmente, no terceiro grupo, denominado MMDMD, ao invés de substituição, foram adicionados 4 mg de dexametasona às doses de 2 e 6 horas de MESNA, administradas após a ifosfamida. Com a finalidade de ser obtida gastroproteção, todos os pacientes em uso de dexametasona receberam 150 mg de ranitidina, via oral, duas vezes ao dia (12 em 12 horas). Para garantir a profilaxia de infecção urinária, todos os pacientes, uma hora antes de cada cistoscopia, foram medicados com sulfametoxazol (800 mg) e trimetropin (160 mg).

3.8.2 ANÁLISE URINÁRIA

Adotou-se, como critério para avaliação dos resultados, em exames urinários dos pacientes, realizados 24 horas após a administração da última dose de ifosfamida, a presença de hematúria, assim designada sempre que se obtivesse mais de cinco hemácias por campo (400x), estratificada em graus I, II ou III, de acordo com a observação de 6 até 10, 11 até 50 e acima de 51 eritrócitos por campo, respectivamente.

3.8.3 EXAME ÊNDOSCÓPICO

Tão logo a coleta de urina houvesse sido realizada, todos os pacientes foram submetidos a exame cistoscópico, em caráter ambulatorial, utilizando lidocaína gel a 5%, intrauretralmente (FIGURA 8).



FIGURA 8- Videocistoscopia

Na primeira parte do exame, foram observados os aspectos macroscópicos, levando-se em conta, nesse caso, as características urinárias, vascularização, presença de sangramento, edema, até a existência de outras patologias vesicais, tais como: litíase, divertículos, tumores, etc... Na segunda parte, foram coletadas amostras vesicais, através de biópsias com pinças endoscópicas, em número de duas, escolhendo-se os sítios mais representativos, ou seja, aqueles que, no entendimento do examinador, apresentassem alterações dos padrões considerados normais.

No que concerne aos aspectos macroscópicos, a exemplo do que se fez experimentalmente, para quantificar e descrever os achados endoscópicos, utilizou-se os critérios macroscópicos de Gray, a saber:

1 –Edema:	Escore
a- Nenhum:	zero
b- Leve:	um
c- Moderado:	dois
d- Severo:	três
2 – Hemorragia:	
a- Ausente:	zero
b- Telangiectasia:	um
c- Sulfusão hemorrágica:	dois
d- Urina hemática ou coágulos intravesicais:	três

3.8.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Ao final de cada exame endoscópico, foram realizadas duas biópsias vesicais. Os fragmentos uroteliais obtidos foram fixados em formol a 10%, desidratados, diafanizados em xilol e incluídos em parafina.

A análise histológica foi feita em espécimes cortados na espessura de $5\mu\text{m}$, coradas em hematoxilina-eosina, com pelo menos três secções por lâmina histológica. A observação (FIGURAS 9 e 10) foi feita por dois observadores e os resultados confirmados por um terceiro observador (patologista mais graduado).

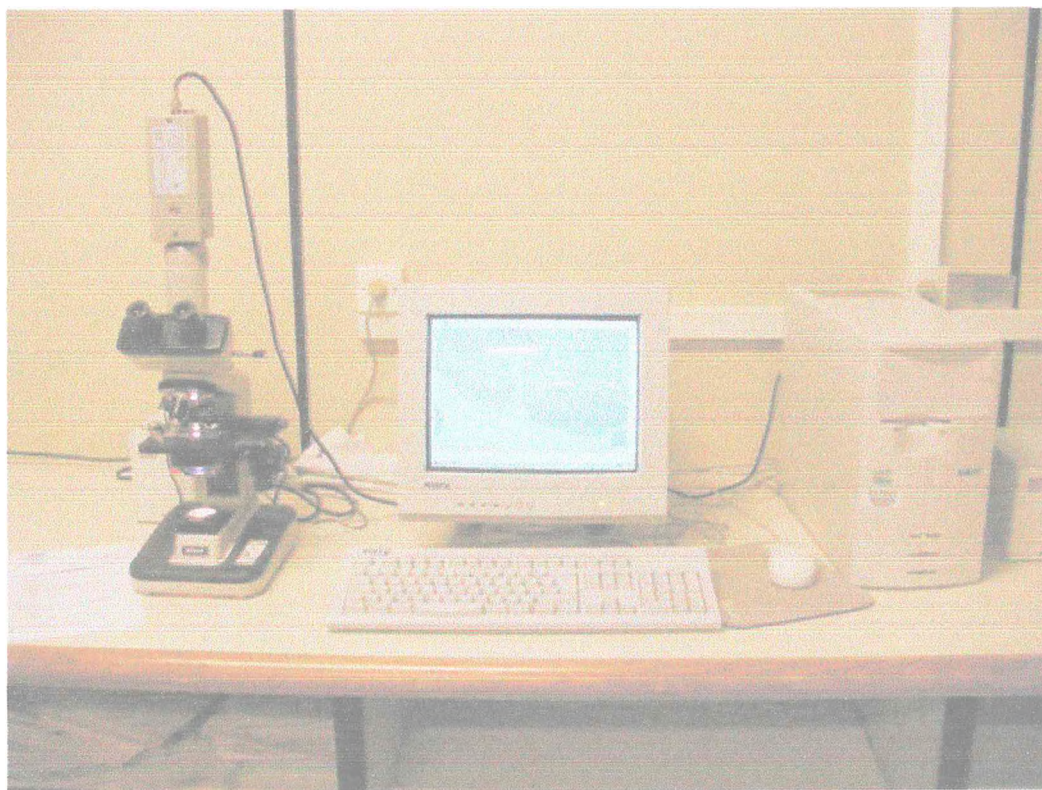


FIGURA 9- Sistema de captura de imagem microscópica

Além da descrição, os achados histológicos foram avaliados semiquantitativamente, do dano inicial à reparação (regenerativa, adaptativa ou cicatrizante), mediante escores (ver o ANEXO IV), sendo considerados os graus de intensidade das alterações uroteliais e estromáticas decorrentes dos, ou associadas aos eventos inflamatórios e à sua evolução (dano celular, necrose, congestão, edema, exsudato, hemorragia, hialinização, esclerose).

A introdução de métodos quantitativos de análise morfométrica em cortes histológicos, calcada no magnífico trabalho de AHERNE (1970), tem propiciado inferências inquestionáveis sobre dimensões, extensão, volumes, proporções de componentes teciduais, comparações entre espécies e indivíduos (ALVES et al., 1996). Todavia, a intensidade de fenômenos microscópicos em uma cadeia de eventos, por exemplo, inflamação, assim como intensidade de reações tintoriais de células e tecidos, v.g. na imunoistoquímica ou na histoenzimologia, embora possa haver a contagem de células reativas, há carência de meios de análise quantitativa plena. Neste caso, os investigadores lançam mão de avaliação semiquantitativa, qualificando a intensidade dos fenômenos (leve, moderado ou acentuado; fraco, moderado ou forte) ou estabelecendo graus numéricos de equivalência (1,2,3...); nesse último caso, o somatório dos achados compõe o escore (ou índice), permitindo-se observações de comparação entre indivíduos, séries ou coortes. Exemplos são vistos em todas as áreas médicas, seja catalogando sintomas, aspectos macroscópicos, eventos microscópicos ou histoquímicos (JERDE et al., 2002; FERNANDES et al., 2002; HAN et al., 2002; ITO et al., 2002; BOMMELAER et al., 2001; FERREIRA et al., 2000; ASSREUY et al., 1999; ALVES et al., 1999; DJAVAN et al., 1999; SANNINO & Soudha, 1994), em diversos territórios orgânicos, processos inflamatórios e neoplásicos, inclusive nas cistites (JERDE et al., 2002; DENSON et al., 2000; ASSREUY et al., 1999).

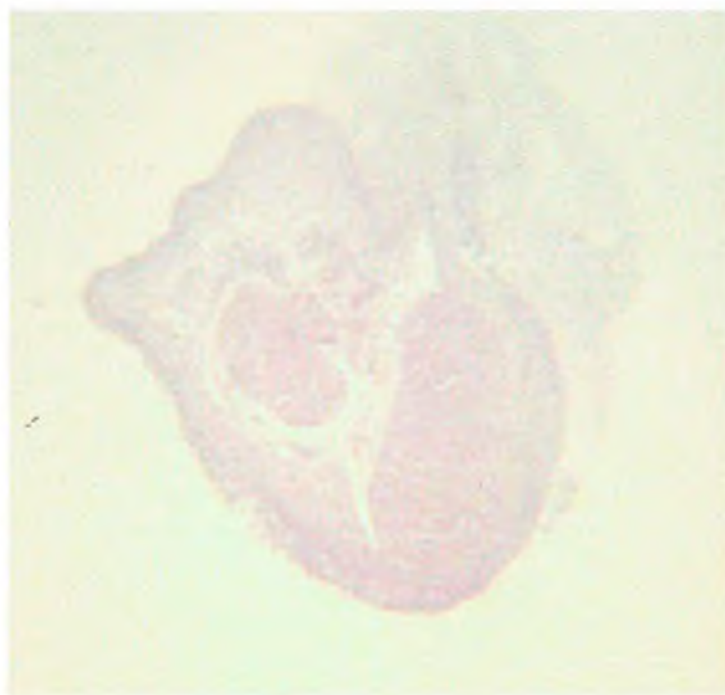


FIGURA 10 -Aspecto microscópico de um espécime de biópsia vesical (aumento de 40 x)

Para a análise microscópica da cistite hemorrágica (FIGURAS 10 e 11), foram considerados, em cada caso, os escores finais (somatório) das alterações do urotélio (graus de erosão, de edema, de exocitose, de proliferação típica ou atípica e de metaplasias adaptativas), sabidamente envolvidas nas etapas da inflamação, seja como iniciantes, pela necrose epitelial, geralmente tóxica ou isquêmica, seja de regeneração hiperplásica ou adaptação. No estroma, em especial na lâmina própria, foram analisados os graus (1 a 3) de congestão, edema, hemorragia, exsudação, hialinização e esclerose, valorizando-se, ainda, a qualidade do exsudato (agudo, crônico), pela sua celularidade. Destarte, os escores finais de cada caso poderiam alcançar o somatório de 26.

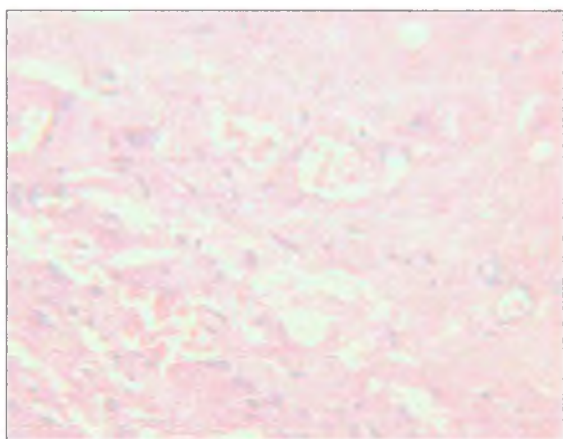


FIGURA 11-A

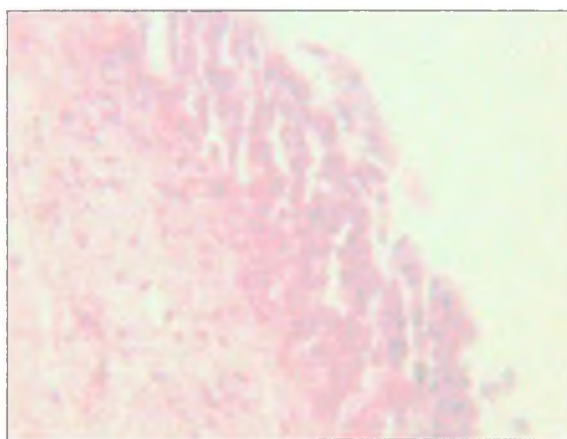


FIGURA 11-B

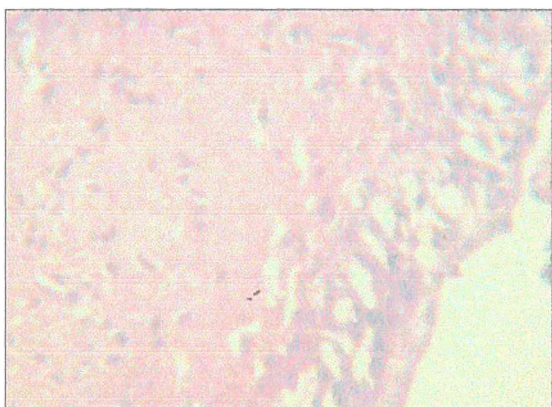


FIGURA 11-C



FIGURA 11-D

FIGURA 11 - Exemplificação de achados microscópicos observados: A – Congestão (400 x); B - Epitélio normal com hialinização subepitelial (400 x); C - Edema urotelial máximo (400 x); D – Erosão perda das camadas superficial e intermediária (100 x)

O grupo controle, ou seja, de referência (indivíduos não tratados), permitiu a obtenção dos escores de base, pela avaliação dos mesmos parâmetros, além da definição do ponto de corte. Desta forma, variações individuais ligadas a outros valores (sexo, idade), ou intercorrências aleatórias, foram minimizadas.

Fica evidente que, além de propiciar uma visão analítica globalizante, os escores permitem distinguir não apenas as diferenças individuais ou de grupos, mas facilitam, também, a aplicação de métodos estatísticos descritivos, sobretudo a avaliação de correlações ou independência entre os eventos, os indivíduos e os grupos analisados. Nessa perspectiva, a par da análise descritiva, os escores foram comparados mediante o teste exato de Fisher.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizando uma série de programas de computador, denominada em seu conjunto por Epi info, na sua versão 6.04 b, foi desenvolvido um questionário para coleta de dados e formação de um banco de dados.

O número de pacientes por grupo foi calculado utilizando um nível de confiança de 95% e um poder de 80% (FLEISS, 1981). Uma vez agrupados os dados, utilizou-se a mediana como medida de tendência central, comparando-se, ademais, os resultados obtidos nos grupos tratados, com os obtidos nos 18 pacientes que ainda não tinham sido submetidos à quimioterapia com ifosfamida, incluídos no grupo de referência. Antes, porém, necessário se faz dizer que, para realização dos testes de significância, foi adotado como ponto de corte, a mediana (Me) dos somatórios dos escores do grupo de referência. Já na composição das tabelas de contingência, em uma célula, utilizou-se a frequência e o percentual dos somatórios dos escores que foram iguais ou inferiores ao ponto de corte, e, na outra célula, foram utilizados aqueles superiores ao ponto de corte. Finalmente, através de tabelas 2x2, para avaliação da significância, aplicou-se o teste exato de Fisher, para apreciar o nível de significância dos resultados obtidos.

4. RESULTADOS

4 RESULTADOS

Dos 46 pacientes incluídos no estudo, quatro foram excluídos; uma dessas exclusões ocorreu por desistência do paciente, no momento da realização da cistoscopia, sob a alegativa de desconforto para prosseguir com o exame; dois outros pacientes, antes mesmo dos exames, manifestaram desejo de sair do estudo, alegando mal-estar decorrente de efeitos colaterais da quimioterapia (náusea e vômitos). O último foi excluído por impossibilidade de realizar a cistoscopia, em face de uma estenose uretral. Dos remanescentes, 12, 15 e 15 foram randomizados para os grupos MDD, MMM e MMDMD, respectivamente. O aludido estudo clínico teve início, representado pela data da primeira inclusão, no dia 11 de outubro de 1999, e término no dia 15 de julho de 2002, momento da realização do último exame.

No que diz respeito ao sexo, houve um equilíbrio, posto que 52,4% eram masculinos e 47,6% femininos, fato que se repetiu, inclusive, no grupo de referência, onde 50% eram mulheres. Nos grupos tratados, a distribuição se fez como na tabela a seguir:

TABELA 4— Distribuição dos pacientes estudados, segundo o sexo e a profilaxia da cistite realizada.

	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>	<i>TOTAL</i>
Feminino	7 (46,6%)	5 (41,7%)	8 (53,4%)	20
Masculino	8 (53,4%)	7 (58,3%)	7 (46,6%)	22
TOTAL	15	12	15	42

A análise dos dados demonstrou que não há diferenças significantes entre os grupos, quando são levados em conta o sexo e a idade. A idade média global dos pacientes foi de 34 anos, tendo o mais jovem 17 anos e o mais velho, 68 anos (ANEXO V). Nos grupos REF, MMM, MDD e MMDMD as médias etárias foram 34, 31, 40 e 31 anos, respectivamente.

Entre os pacientes, como era de se esperar, houve uma ampla variação de patologias neoplásicas, sendo o predomínio de sarcomas (78,7%), seguidos de PNET (11,9%), tumores germinativos dos testículos (7,1%) e um caso de tumor pulmonar (2,3%) (ANEXO V).

Os esquemas quimioterápicos utilizados foram, em cerca de 21 (50%) dos casos, a ifosfamida associada à doxorubicina, na dose de 25 mg/m², e, nos demais, ifosfamida em associação ao VP-16, esse último na dose de 120 mg/m² (ANEXO V). Quanto à dose utilizada de ifosfamida, obteve-se uma média de 1,9 g/m², com a menor dose de 1,8 g/m² e a maior de 2,5 g/m².

No tocante à análise urinária, 15 (83,3%) dos pacientes do grupo de referência apresentavam menos que cinco hemácias por campo, ao passo que 3 (16,7%) pacientes obtiveram classificação de hematúria com grau I. Mesmo nos grupos tratados e que utilizaram as diversas opções apresentadas para profilaxia de cistite, não foram obtidos resultados que diferissem, significativamente, daqueles encontrados no grupo de referência. Assim é que, quando se trata de exames urinários em que se detectou cinco ou menos hemácias por campo, este evento ocorreu 14 vezes (93,3%) no grupo MMM, nove vezes (75%) no grupo MDD e 15 vezes (100%) no grupo MMDMD, tal como se pode observar na figura 12. Isto significa que, não obstante a profilaxia de que se fez uso, quando se levou em conta os parâmetros utilizados neste estudo, em todos os grupos os pacientes obtiveram proteção contra a hematúria.

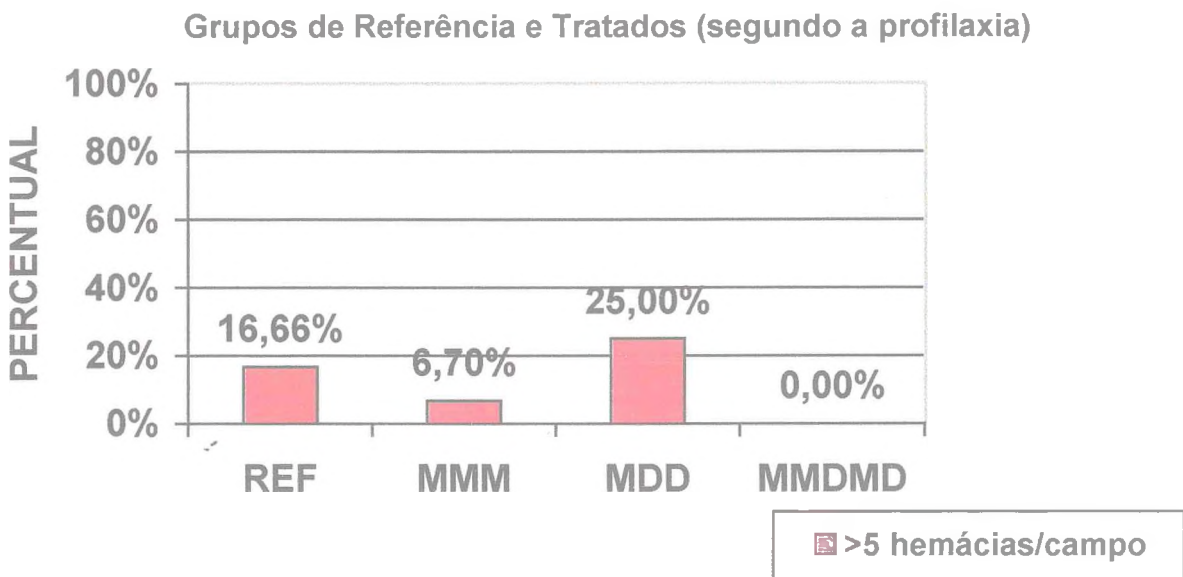


FIGURA 12 – Avaliação dos efeitos dos diferentes tipos de profilaxia de cistite hemorrágica induzida por ifosfamida nas alterações do exame urinário quando se leva em conta a hematúria. O percentual representa a proporção de pacientes em que foram obtidos mais de cinco hemácias por campo (400x).

Embora, a princípio, não fosse intenção estudar outros parâmetros urinários que não a presença de hemácias, ao se fazer a tabulação dos dados, observou-se dois aspectos que foram julgados interessantes e que dizem respeito ao número de leucócitos e à proteinúria.

No primeiro caso, no grupo de referência, 13 (72,7%) apresentavam quatro ou menos leucócitos por campo, ao passo que nos demais grupos tal observação ocorreu como se segue na tabela 5.

TABELA 5 - Efeito das profilaxias de CH induzida por IF na presença de leucócitos na urina.

<i>GRUPO</i>	<i>Quatro ou menos leucócitos por campo</i>	<i>Mais de quatro leucócitos por campo</i>	<i>TOTAL</i>
MMM	13 (86,6%)**	2 (13,3%)	15
MDD	5 (41,6%) *	7 (58,4%)	12
MMDMD	15 (100%) **	0	15
TOTAL	33	9	42

* $p < 0,05$, quando comparados os grupos REF x MDD; ** $p < 0,01$, os grupos MDD x MMM e MMDMD.

Os dados obtidos e suas respectivas análises de significância demonstram que todos as formas de profilaxia, à exceção da MDD, foram eficientes em evitar a detecção de um número de leucócitos urinários, além daquele considerado valor de referência, quando se usou, como base, o grupo de referência. Além disso, considerando o mesmo aspecto, não se observou diferença entre os grupos MMM e MMDMD.

O segundo ponto a ser considerado, diz respeito à proteinúria, cujo comportamento dos dados em tudo se assemelhou àqueles observados quando se levou em conta os leucócitos. Dessa maneira, é que ficou demonstrado que a profilaxia MDD não confere proteção contra a proteinúria, ao contrário das MMM e MMDMD. E, mais uma vez, não houve diferença estatisticamente significativa, quando se considerou o mesmo parâmetro, entre estes dois últimos grupos (TABELA 6).

TABELA 6- Efeito das profilaxias de CH induzida por IF na presença de proteína na urina.

<i>PROTEINÚRIA</i>	<i>REF</i>	<i>MMM</i>	<i>MMDMD</i>	<i>MDD</i>
Presente	6	5**	2**	8*
Ausente	12	10	13	4
TOTAL	18	15	15	12

* $p < 0,05$, quando comparados os grupos REF xMDD; ** $p < 0,01$, os grupos MDD x MMM e MMDMD.

Quanto aos achados endoscópicos, ou seja, aqueles registrados segundo as observações durante as cistoscopias, de acordo com o modelo utilizado, foi possível constatar alguns aspectos, julgados importantes e que serão mostrados nos próximos parágrafos.

No grupo de referência, tal como se poderia esperar, a mediana foi igual a zero, e, somente em um caso registrou-se escore um. Assim, quando comparado o grupo atrás referenciado com aquele em que se usou a profilaxia padrão, com três doses de MESNA, houve uma diferença significativa, pondo em evidência que o MESNA não consegue prevenir o desenvolvimento de fenômenos inflamatórios observados endoscopicamente (FIGURA 13 e 14).

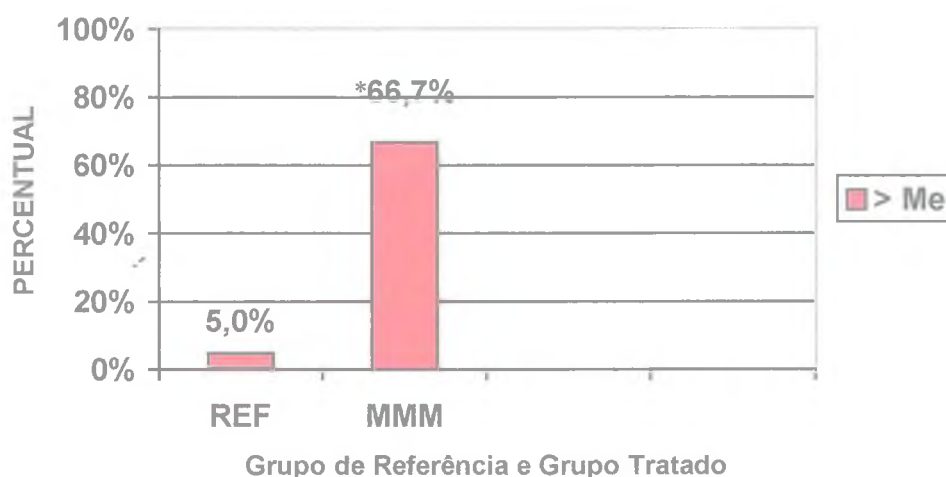


FIGURA 13 – Efeito da terapia padrão com o MESNA na prevenção de CH. A coluna vermelha representa o percentual de somatórios de escores cistoscópicos que ultrapassaram o ponto de corte.* $P < 001$.

É importante destacar que no grupo MMM, embora se pudesse observar edema e (ou) telangiectasia em 66,7 % dos pacientes, somente dois deles (11%) referiam queixas urinárias (disúria e polaciúria) 24 horas após o término do ciclo de quimioterapia com IFS.



FIGURA 14 - Detalhe de uma visão vídeo-cistoscópica de um paciente tratado profilaticamente com MMM mostrando telangiectasias.

A substituição das duas últimas doses do MESNA por dexametasona, no regime tradicional, tal qual pode ser observado na figura 15, também não foi capaz de evitar o aparecimento de fenômenos inflamatórios observáveis à endoscopia. Assim é que 58,3% dos escores obtidos colocavam-se acima do ponto de corte, ou seja, da mediana do somatório dos escores do grupo de referência. Mesmo assim, pelo menos do ponto de vista endoscópico, os seus resultados se equivaleram aos do grupo de referência. Já a adição de dexametasona ao MESNA (grupo MMDMD), reduz aquela proporção para 46,3%, embora ainda não represente isso uma diferença estatisticamente significativa (FIGURA 15).

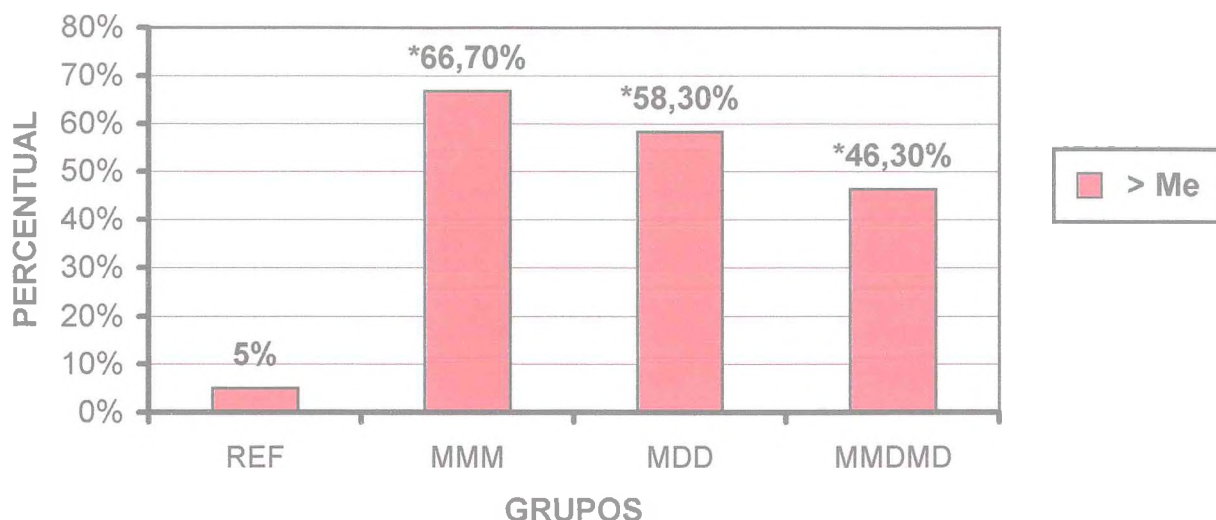


FIGURA 15 – Efeito da terapia padrão com MESNA, isolado ou associado à dexametasona, na prevenção de CH. A cor vermelha representa o percentual de escores cistoscópicos que ultrapassaram o ponto de corte. Quando se compara REF com MMM, MDD ou MMDMD (* P<001).

No que concerne à histologia dos espécimes, produtos das biópsias vesicais dos pacientes do grupo de referência, algumas observações foram feitas, a fim de identificar possíveis alterações morfológicas teciduais resultantes dos traumas inerentes à execução das biópsias. Dessa maneira, constatou-se que os edemas urotelial e da lâmina própria, embora representados por aqueles categorizados por leve, estavam presentes em 33,3 % e 72,2% dos pacientes, respectivamente. Não se observou endocitose, ou seja, a presença de leucócitos inseridos no epitélio; ao mesmo tempo, foi possível constatar a exocitose, ou seja, a presença de extravasamento leucocitário na lâmina própria, em 38,9% dos casos no mencionado grupo.

Considerando-se as alterações sofridas pelo urotélio dos pacientes submetidos à quimioterapia com IFS e aos esquemas profiláticos para CH, utilizados neste estudo, permitiu-se constatar que, independente da profilaxia, o edema (FIGURA 16) esteve presente na maioria dos casos, conforme se pode observar na figura a seguir (tabela 7):

TABELA 7- Proporção de edema urotelial observado à microscopia ótica nos espécimes vesicais, segundo o tipo de profilaxia para cistite hemorrágica.

<i>Classificação do Edema</i>	<i>Grupo de Referência</i>	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>
Ausente	66,6%	*20,0%	*16,7%	*13,3%
Mínimo	33,3%	*73,3%	*75,0%	*86,7%
Intenso	—	6,7%	6,3%	—

- $p < 0,05$ quando se compara os grupos tratados com o grupo de referência.



Figura 16-A



Figura 16-B

FIGURA 16 A - Aspecto microscópico do urotélio sem edema (400 x); **B -** Aspecto microscópico de um urotélio com edema intenso, porém sem erosão (400x).

Levando-se em conta o edema observado na lâmina própria (FIGURA 17), foi possível perceber uma nítida e porque não dizer significativa diferença entre os grupos tratados, tal como se pode constatar na tabela 8.

TABELA 8- Proporção de edema na lâmina própria observado à microscopia ótica nos espécimes vesicais, segundo o tipo de profilaxia para cistite hemorrágica.

<i>Classificação do Edema</i>	<i>Grupo de Referência</i>	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>
Ausente	27,8%	*6,7%	—	*6,7%
Mínimo	72,2%	*86,7%	66,7%	*93,33%
Intenso	—	*6,6%	33,3%	—

* $p < 0,05$ comparando-se o grupo MDD x MMM e MDD x MMDMD.

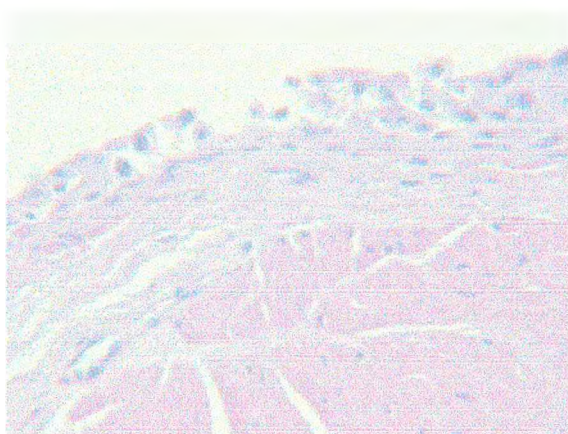


Figura 17 A

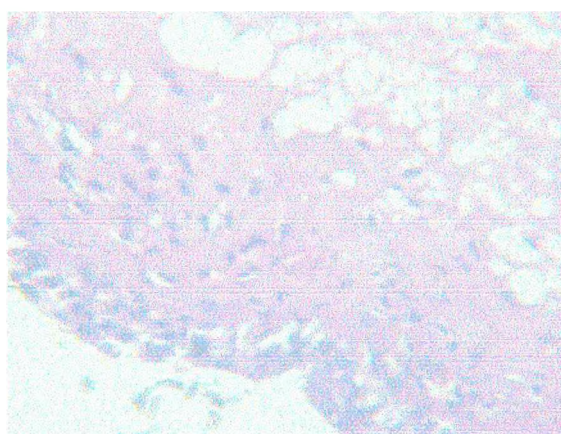


Figura 17 B

FIGURA 17 A - Aspecto microscópico de urotélio com avulsão focal, lâmina própria sem edema, porém com esclerose. Nota-se a muscular indene (400X); B - Aspecto microscópico da lâmina própria intensamente edemaciada e com hialinização (400X).

Ainda sob a perspectiva de observar, isoladamente, os fenômenos inflamatórios, julgados mais importantes, tabulou-se os dados que dizem respeito à erosão urotelial (FIGURA 18), cujos resultados podem ser apreciados na tabela 9.

TABELA 9- Proporção de erosão urotelial observado à microscopia ótica nos espécimes vesicais, segundo o tipo de profilaxia para cistite hemorrágica.

<i>Tipo de Erosão</i>	<i>Grupo de Referência</i>	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>
Ausente	38,8%	*6,7%	*8,3%	*13,3%
Superficial	61,2%	60,0%	**33,3%	86,7%
Superficial e para-basal	—	26,6%	33,3%	—
Ulceração	—	6,7%	**25,1%	—
Total de erosão	61,2%	93,3%	91,7%	86,7%

* $p < 0,05$ quando se compara o tratamento com o grupo não tratado (referência); ** $p < 0,05$ quando se compara o grupo MDD com MMM ou MMDMD.

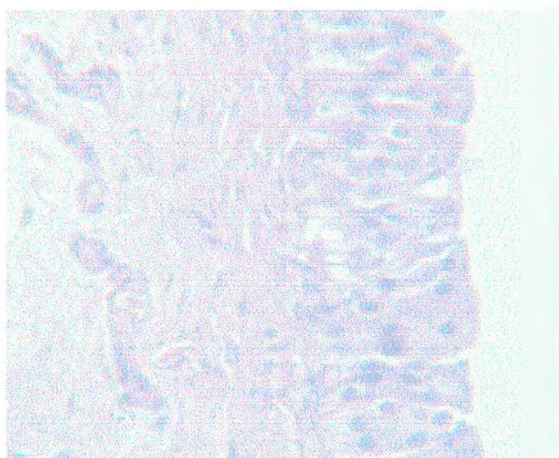


Figura 18 A

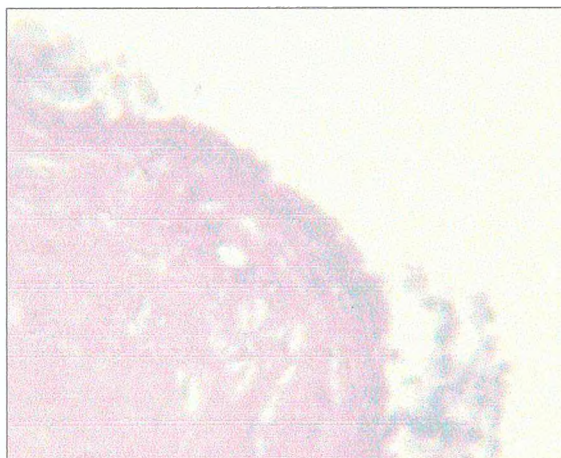


Figura 18 B

FIGURA 18 A - Aspecto microscópico do urotélio íntegro, com congestão vascular mínima na lâmina própria (400 x); B – Aspecto microscópico de erosão urotelial completa (400x).

Assim, conforme pode ser constatado a partir dos dados apresentados na tabela 9, foi possível fazer inferências acerca de dois aspectos interessantes:

Inicialmente, que já havia algum grau de erosão em uma proporção expressiva das amostras vesicais de pacientes ainda não tratados. Vale ressaltar que, em todos os casos, tratava-se de erosão superficial e, na maioria das vezes, focal. Provavelmente, este achado deve-se à disrupção determinada pela retirada do fragmento vesical.

Em segundo lugar, constatou-se que, independente do tipo de uroproteção utilizada, levando-se em conta apenas a existência ou não de erosão, não se alcançou diferença estatisticamente significativa. Por outro lado, na medida em que se estratifica o tipo de erosão, ou seja, a intensidade da alteração estrutural observada, observou-se que no grupo em que se administrou apenas a primeira dose de MESNA e se substituiu as demais por dexametasona (MDD), erosões de maiores magnitudes foram observadas.

Do ponto de vista microscópico, dois outros aspectos relevantes foram observados. O primeiro diz respeito à exocitose, ou seja, a migração celular para fora dos vasos sanguíneos e sua interposição epitelial; a seguir, chamou atenção a hemorragia, representada pela extravasamento de hemácias do espaço intravascular para a lâmina própria, espaço sub-urotelial ou musculatura.

Com relação ao primeiro ponto, a exocitose ou exsudato (FIGURA 19) estava presente em 48,9% dos casos do grupo de referência (REF), em 84,7% dos casos do grupo MMM, em 75% dos casos do grupo MDD e em 46,7% do grupo MMDMD. Tendo em vista os resultados obtidos, é verdadeiro afirmar que, no modelo utilizado neste estudo, a dexametasona, quando associada ao MESNA, é capaz de reduzir, de forma estatisticamente significativa, a observação de exsudato celular, qualquer que seja ele; isso sugere que a dexametasona a faz através de inibição de migração celular leucocitária para o sítio inflamatório. Embora não tenha havido predomínio de um tipo específico de leucócitos no grupo REF, nos demais, a celularidade mista, ou seja, granulócitos e agranulócitos, foi majoritária (TABELA 10).

TABELA 10 – Tipo de celularidade observada nos casos de exocitose, segundo o tipo de profilaxia administrada de cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.

<i>CELULARIDADE</i>	<i>REF</i>	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>
Ausente	61,1%	13,3% *	25,0% *	53,3%**
Agranulócito	5,6%	6,7%	8,3%	-
Granulócito	16,7%	26,7%	25,0%	6,7%
Mista	16,7%	53,3%	41,7%	40,0%

- $p < 0,01$ quando se compara MMM e MDD x REF, ** $p < 0,05$, quando se compara

Finalmente, os últimos aspectos considerados antes de se passar a utilizar os escores totais, para que se possa ter uma visão geral do conjunto dos fenômenos inflamatórios, foram aqueles relacionados à hemorragia e à reparação (FIGURA 20). Coincidentemente ao que foi constatado, via comparação com alguns outros parâmetros, tanto o MESNA, administrado no seu esquema padrão (MMM), quanto a dexametasona, administrada em substituição ao MESNA (grupo MDD), não foram eficientes em prevenir o aparecimento de focos hemorrágicos. Contudo, a associação de dexametasona ao MESNA (grupo MMDMD) conseguiu inibir o surgimento de focos hemorrágicos, de maneira significativa (TABELA 11).

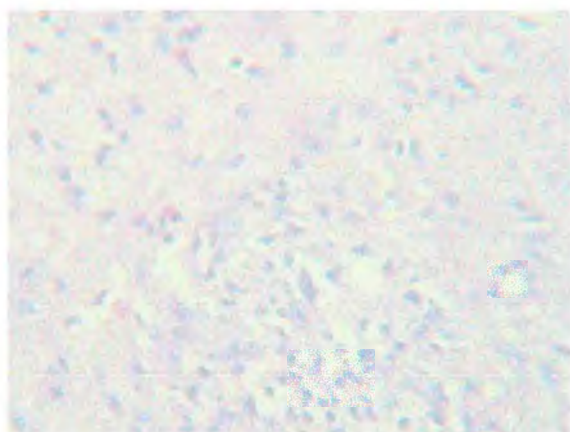


Figura 19 A

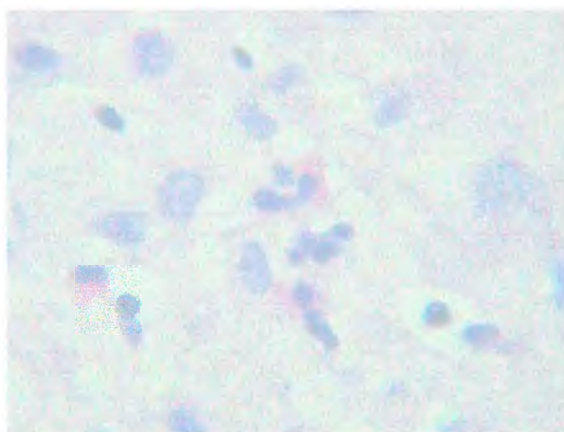


Figura 19 B

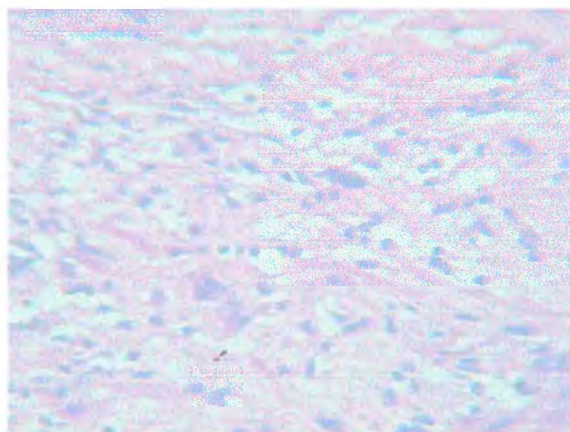


Figura 19 C

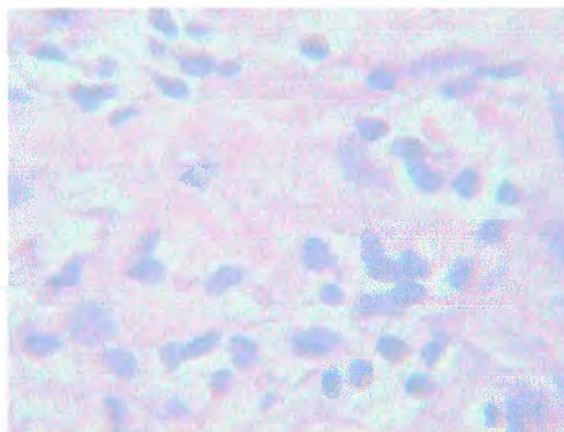


Figura 19 D

FIGURA 19 – Aspectos microscópicos de espécimes de biópsias vesicais: A -Lâmina própria com edema intenso e infiltrado leucocitário (exocitose), rico em eosinófilos (400x); B – Detalhes da lâmina de A em maior aumento (1000 x); C – Lâmina própria com intenso infiltrado leucocitário misto, com predomínio de mononucleares (400 x); D – Detalhes da lâmina C em maior aumento (1000 x).

TABELA 11 – Percentual de hemorragia, observado à microscopia ótica, em tecido vesical obtido por biópsia vesical, segundo a profilaxia utilizada para cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.

<i>HEMORRAGIA</i>	<i>REF</i>	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>
PRESENTE	4 (22,2%)	11 (73,3%)*	7 (58,3%)*	2 (13,3%)**
AUSENTE	16 (77,8%)	4 (26,7%)	5 (41,7%)	13 (86,71%)

* $p < 0,05$, quando se compara MMM E MDD x REF; ** $p < 0,05$, quando se compara MMDMD x MDD;

** $P < 0,01$, quando se compara MMDMD x MMM. Não há diferença significativa entre MMDMD e REF.

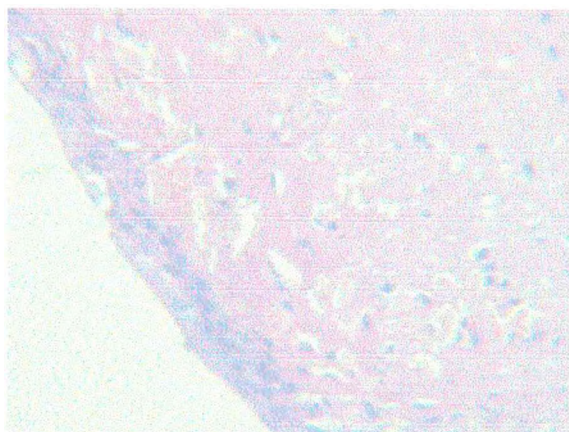


Figura 20 A

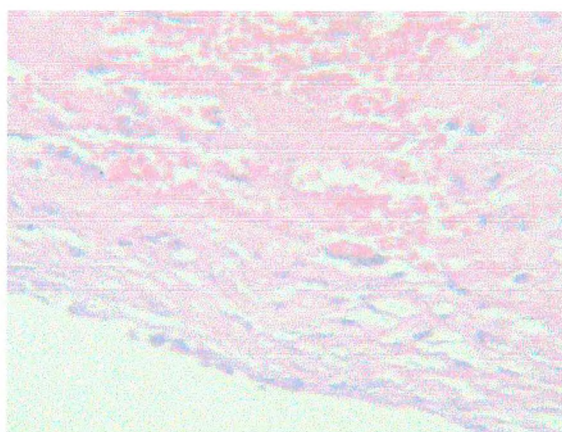


Figura 20 B

FIGURA 20 – Aspecto microscópico de espécime de biópsia vesical: A – Urotélio íntegro com congestão e hemorragia subepitelial, além de hialinização corial (400 x); B – Erosão completa (ulceração) do urotélio mais hemorragia e esclerose da lâmina própria (400 x).

Quanto à reparação, ou seja, o conjunto de fenômenos adaptativos celulares e teciduais frente às agressões, notou-se que os dois tipos mais frequentemente observados neste estudo foram a hialização e a esclerose. A primeira, quase sempre esteve presente concomitantemente, ou seguindo-se aos focos de hemorragias recentes (figura 20 A). Em

relação ao segundo tipo, a esclerose esteve presente quando já não eram observados focos recentes de hemorragia, muitas vezes associada com áreas de extensas erosões (figura 20 B). A distribuição percentual dos referidos fenômenos deu-se na conformidade dos valores registrados na tabela 12.

TABELA 12 –Proporção de hialinização e/ou esclerose, observadas à microscopia ótica, em biópsia vesical, segundo a profilaxia para cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.

<i>Tipo de Reparação</i>	<i>Grupo de Referência</i>	<i>MMM</i>	<i>MDD</i>	<i>MMDMD</i>
Inexistente	56,3%	*20%	35,0%	**53,3%
Hialinização	31,3%	6,7%	31,6%	20,0%
Esclerose	12,5%	73,3%	16,7%	33,3%
Ambas	–	–	16,7%	–

* $p < 0,05$ comparando-se REF x MMM; ** $p < 0,05$ quando se leva em conta MMM x MMDMD.

Mais uma vez, no grupo cuja profilaxia para CH foi MESNA, utilizado segundo o esquema tradicional (grupo MMM), evidenciou-se um percentual significativo de hialinização e (ou) esclerose, resultante da reparação seqüente aos danos teciduais, sobretudo à hemorragia.

Uma vez contabilizados os eventos inflamatórios nas suas particularidade e nuances, de maneira mais descritiva, passou-se a utilizar a metodologia semiquantitativa de somatório dos escores microscópicos atribuídos às diversas alterações estruturais teciduais. Dessa forma, obteve-se uma mediana do somatório dos escores, no grupo de referência, igual a quatro. Portanto, tal qual ocorreu quando da análise dos achados endoscópicos, esse valor passou a ser utilizado como ponto de corte. Os dados obtidos ratificaram as observações de que o MESNA, pelo menos no modelo em questão, não confere proteção completa contra a urotoxicidade induzida pela ifosfamida (FIGURA 21).

É importante ressaltar que a maior contribuição no somatório dos escores veio das alterações ocorridas na lâmina própria, significando que é aí que a IFS provoca uma maior intensidade de alterações microscópicas. Assim é que os percentuais de contribuição da lâmina própria, nas diversas opções de profilaxia, ou seja, MMM, MDD, MMDMD, foram 70,78%, 68,73% e 64,09%, respectivamente. Portanto, independente do escore final, a relação entre os danos da lâmina própria e do urotélio obedeceu a uma certa proporcionalidade.

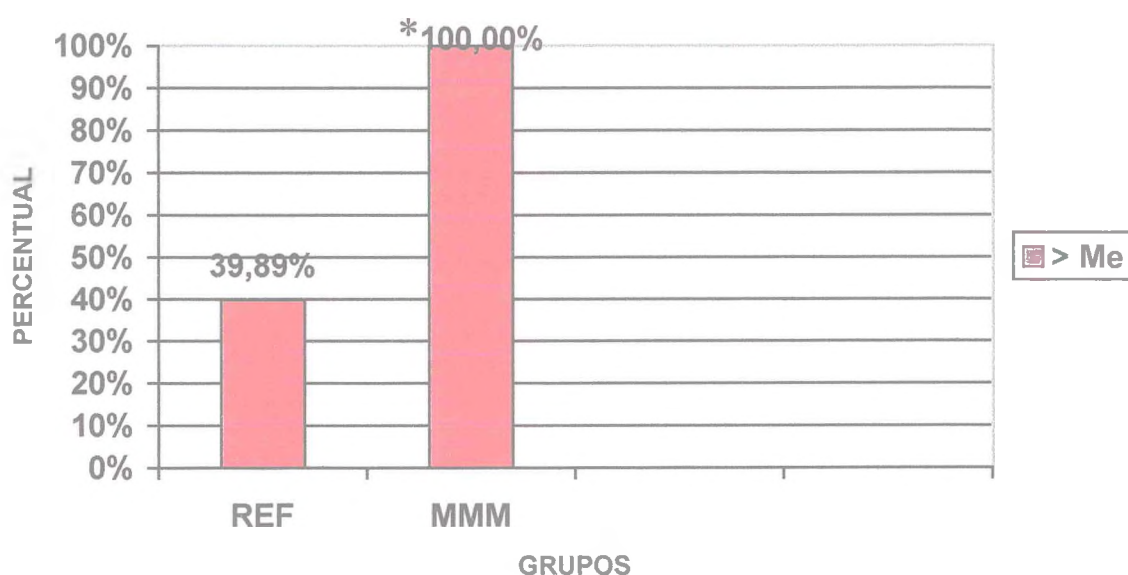


FIGURA 21 – Efeito da terapia padrão com MESNA na prevenção de CH. A cor vermelha representa o percentual de escores histológicos que ultrapassaram o ponto de corte. * P<0,01.

No grupo MDD, os fenômenos inflamatórios microscópicos estiveram presentes de tal maneira, que se chegou a uma diferença estatisticamente significativa entre este grupo e o REF. Esse fato permitiu inferir-se que a dexametasona, quando utilizada substituindo o MESNA, não melhora de maneira consistente os seus resultados, isso se levada em conta a uroproteção, afirmação essa que pode ser comprovada pela inexistência de diferença significante entre os grupos MDD e MMM, quando considerados os parâmetros microscópicos citados anteriormente (FIGURA 22).

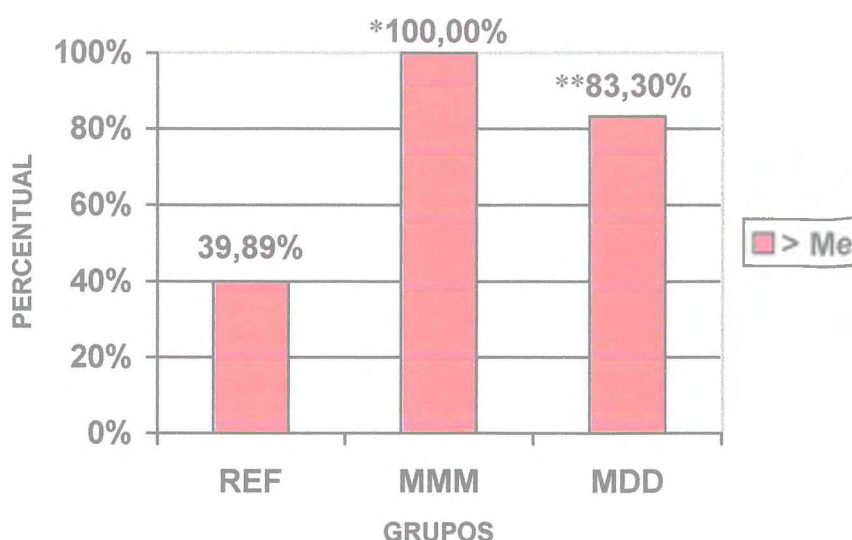


FIGURA 22 – Efeito da terapia padrão com MESNA e da substituição do MESNA por dexametasona na prevenção de CH. As colunas vermelhas representam os percentuais de escores histológicos que ultrapassaram o ponto de corte.* $P < 0,01$ (REF x MMM); ** $p < 0,05$ (REF x MDD).

Por outro lado, a associação da dexametasona às duas últimas doses do MESNA foi eficiente em prevenir a observação de achados inflamatórios, quando comparada com o esquema tradicional de MESNA (MMM) e a substituição de duas das doses do MESNA por dexametasona (MDD) (FIGURA 23).



FIGURA 23 – Efeito da terapia padrão com MESNA, da substituição do MESNA por dexametasona e da adição de dexametasona ao MESNA na prevenção de CH. A cor vermelha representa o percentual de escores histológicos que ultrapassaram o ponto de corte.* $p < 0,05$ (MMM x MMDMD).

5. DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

5.1 Limitações Metodológicas

A pesquisa, no seu sentido mais amplo, e justamente aquela que merece o qualificativo de *científica*, guardam similitudes em muitos aspectos. Ambas se valem de um conjunto de atividades direcionadas para a busca de um determinado conhecimento, utilizam métodos, além de técnicas epistemológicas voltadas para a realidade empírica, e, ainda, têm uma forma peculiar de comunicar o conhecimento obtido. Apesar do exposto, seguir um roteiro minucioso, detalhado, não é o bastante para assegurar a obtenção de resultados incontestáveis. Em outras palavras, o sucesso de um trabalho de pesquisa não depende somente da submissão aos procedimentos do método e aos recursos da técnica, mas requer incentivo, imaginação criadora e iniciativa individual. Assim é que, por ter sido esta a primeira pesquisa clínica de cistite hemorrágica induzida por um agente alquilante, sob a responsabilidade de um grupo de pesquisa com uma significativa produção congênere, na área experimental, adotou-se, em todos os momentos, uma atitude de desapego, para que a crítica, própria e de outros, pudesse lapidar o processo de pesquisa, em busca da verdade.

O contraditório, muitas vezes, evoca questionamentos, e demanda ações mobilizadoras de esforços científicos que resultam em pesquisas. Foi dessa forma que, ao investigar um tema tão importante como a cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (CH), os pesquisadores do LAFICA foram surpreendidos pela escassez de estudos sobre CH, na literatura médica indexada, ainda que experimentais. Esse fato serviu de motivação para que, por mais de nove anos, o grupo do LAFICA desenvolvesse diversos estudos experimentais (RIBEIRO et al., 2002; RIBEIRO et al., 1998; SOUZA-FILHO et al., 1997; GOMES, 1995; LIMA, 1994), cujos resultados serviram de base para o equacionamento do problema, fornecendo subsídios para orientação desta pesquisa. Porém, mesmo com as apresentações do estudo preliminar, do anteprojeto e do projeto final, já na montagem e na execução, foram necessárias adequações ao projeto, representadas pelo ajuste de elementos selecionados, fundamentados em observações práticas, já que o conhecimento teórico sobre o tema, quando se leva em conta um ensaio clínico, era parco.

Como exemplo marcante, cita-se a introdução de um método de avaliação semiquantitativa, qualificando a intensidade dos fenômenos inflamatórios, de maneira mais completa que a utilizada até aquele momento nos ensaios experimentais, sob a denominação de critérios de Gray (1986). Essa opção resultou da observação de que, por serem utilizados em estudos experimentais, em que as bexigas dos animais poderiam ser examinadas *in totum*, os critérios de Gray não eram suficientes para servir de parâmetro na observação de fenômenos inflamatórios em espécimes que representavam apenas pequenas amostras vesicais. Essa decisão foi embasada em outros exemplos de trabalhos científicos realizados com diversos órgãos, inclusive bexiga (ASSREUY et al., 1999, ALVES et al., 1996, BOMMELAER et al., 2001, DJAVAN et al., 1999, FERNANDES et al., 2002, FERREIRA et al., 2000, HAN et al., 2002, ITO et al., 20002, JERDE et al., 2002, SANNINO & SOUSHA, 1994).

Como primeira contribuição, a metodologia empregada para propiciar inferência sobre os aspectos microscópicos da CH, além de possibilitar uma visão analítica globalizante do problema, permitiu a aplicação de testes estatísticos descritivos. A sua adoção, tida como uma ferramenta essencial na observação dos fenômenos inflamatórios da CH, com os devidos ajustes, poderá servir de base à elaboração de novos trabalhos que tenham por objetivo a elucidação de questões relacionadas à CH.

A cistoscopia é um exame que, se executado dentro dos rigores da técnica e em mãos experientes, tem baixo índice de complicação e mortalidade nula. Na instituição em que este estudo clínico foi realizado, tal como na maioria dos serviços de urologia do Brasil, é uma prática corrente realizar cistoscopia em ambiente ambulatorial, sob o efeito de anestesia tópica uretral, como lidocaína. O referido exame, ainda que seguro, é fonte de desconforto e, mais que isto, de apreensão por parte do paciente. Assim é que, sob tais condições, nem sempre se consegue a colaboração do paciente para fazer mais que um destes exames, sobretudo quando, por ser de direito, o indivíduo é devidamente informado do caráter experimental do estudo do qual está participando. De tal forma, embora a idéia inicial fosse realizar dois exames, um antes e outro depois da quimioterapia, por razões óbvias, deu-se por satisfatória, nesta pesquisa, a realização de duas cistoscopias somente naqueles que concordaram, quantidade suficiente apenas para atingir o número de indivíduos necessários ao grupo que serviu como referência.

Somado ao rigor na seleção dos pacientes, outro óbice encontrado deveu-se à característica da população, representada por pacientes portadores de doença neoplásica, muitos dos quais com evolução desfavorável, fato que chegou a limitar a adesão ao estudo;

concorreu também para isto, a variabilidade na característica dos pacientes, fator que motivou uma demora acima da planejada na obtenção de número suficiente de indivíduos, capaz de satisfazer o planejamento amostral.

Ainda no que tange às limitações, pode-se destacar a impossibilidade para assegurar a completa ingestão de todos os comprimidos administrados para uso domiciliar, uma vez que os tratamentos quimioterápicos foram realizados em caráter ambulatorial e os tratamentos profiláticos, fossem com MESNA ou dexametasona, continuavam após o retorno dos pacientes para suas casas. Para se certificar da correta ingestão das drogas, além de rigorosa orientação recebida previamente, posteriormente, os pacientes eram interrogados sobre o modo como usaram os medicamentos, bem como foram instruídos, no sentido de que, ao seu retorno, trouxessem as embalagens das aludidas drogas, a fim de que fossem as mesmas conferidas.

Por fim, os pré-tratamentos com ondasetrona, um inibidor da serotonina, além de corticosteróide, ambos utilizados como antiemético, embora não tenham impedido a obtenção de resultados estatisticamente significantes, talvez expliquem parte do efeito uroprotetor do MESNA.

5.2 Principais achados e correlatos na literatura

Não obstante pertençam ao grupo das oxazafosforinas, a ifosfamida (IFS) e a ciclofosfamida (CFS), devido às diferenças que apresentam em suas propriedades farmacológica e toxicológica, têm diferentes aplicabilidades terapêuticas, bem como limitações nos seus respectivos usos. Quanto a esse último aspecto, a toxicidade dose-limitante da IFS é a urotoxicidade, enquanto que a da CFS é a mielotoxicidade (BRADE & HERDRICH, 1986).

O advento da profilaxia com o MESNA modificou o rumo da terapia citotóxica com oxazafosforinas, aumentando, assim, o potencial terapêutico da IFS em tumores responsivos a esta droga, na medida em que permitiu o uso de doses maiores. Assim é que a baixa incidência de cistite hemorrágica observada atualmente, creditada ao uso do MESNA, cria dificuldades à realização de estudo visando à compreensão dessa afecção, até porque, obviamente, não se observam fenômenos inflamatórios similares aos ocorrentes nos tempos que antecederam o uso do MESNA. Por outro lado, seria considerado antiético e não passível de aprovação pelas comissões de ética em pesquisa, qualquer proposição para utilizar grupos de pacientes em que não se administrasse qualquer profilaxia para cistite

hemorrágica. Por esta razão, há necessidade de desenvolver modelos cada vez mais inteligíveis, e, ao mesmo tempo, precisos e verificáveis. Este trabalho é resultado de uma dessas tentativas que, por assim dizer, poderá nortear outros pesquisadores a trilhar rumos seguros na busca de um conhecimento mais completo sobre esta importante entidade nosológica.

Dentre as contribuições oferecidas por este trabalho, tem-se a destacar, em primeiro lugar, o fato de que o sumário de urina, quando da utilização da hematúria como parâmetro para aferir a existência e intensidade dos fenômenos inflamatórios na CH, em estudos comparativos, não é confiável. Pode-se fazer tal afirmação, tendo em vista que, sob as circunstâncias em que o exame foi realizado e de acordo com o modelo deste trabalho, não houve eficiência na demonstração de qualquer diferença estatisticamente significativa entre os diversos grupos, embora tenha sido logrado êxito via outros métodos. Essa inferência é baseada na observação feita de que, o sumário de urina, quando se leva em conta a hematúria, não tem a necessária sensibilidade para detectar alterações iniciais ou menores na CH. Por outro lado, nos mesmos grupos, foi possível constatar tais diferenças, quer do ponto de vista endoscópico, como microscópico.

Possivelmente, a hematúria teria sido um parâmetro adequado para indicar cistite, no tempo em que não se usava MESNA, com a finalidade profilática. Assim é que em um dos poucos estudos randomizados, com finalidade de estudar as toxicidades da IFS e CFS, realizado pelo EORTC, com *dose ration* de 2,5 e 1,2 g/m², respectivamente, sem proteção com MESNA, observou-se hematúria microscópica e macroscópica em 18% e 9%, após IFS (BRADE&HERDRICH, 1986). Outras observações, embora não obedecessem a uma sistematização do mencionado estudo, chegaram a demonstrar percentuais de hematúria que variavam de 20 a 40%. Convém ser dito que, quando se utiliza o MESNA, a incidência de hematúria, microscópica e macroscópica, reduz-se para algo em torno de 5% (BRADE & HERDRICH, 1986).

Apesar da uroproteção inquestionável que o MESNA confere, sobretudo quando se leva em consideração a redução da sintomatologia urinária, conforme se pode observar neste estudo, uma cistite mínima, ainda que em pacientes na grande maioria das vezes assintomáticos, representada por alterações uroteliais endoscópicas, pode ser observada em uma considerável parcela dos citados indivíduos. A dexametasona, em substituição ao MESNA, embora tenha reduzido o aparecimento desses achados, não o fez de forma significativa. No primeiro caso, pressupõe-se que nem toda acroleína é neutralizada pelo MESNA, ou, ainda, que outros mecanismos, desconhecidos ou menos

potentes, são responsáveis pelo desenvolvimento de uma cistite, na maioria dos casos, subclínica. Um dos mecanismos prováveis é que o DIMESNA, em ensaios experimentais, *in vitro*, utilizando células tubulares renais, confere proteção urotóxica contra o 4-OOH-CFS e não contra a 4-OOH-IFS e o cloroacetaldeído (CAA), dois dos metabólicos urotóxicos da ifosfamida. A constatação relatada, explica, em parte, as diferenças de urotoxicidade da IFS e da CFS (MOHRMANN et al., 1994). Pohl e colaboradores, baseados no fato de que o CAA é um importante metabólito das oxazafosforinas, desenvolveram um estudo experimental, com o intuito de elucidar o possível papel do CAA na patogênese da CH. Estes autores observaram que, em experimentos com ratos, a injeção intraperitoneal de CAA não produz lesão, ao passo que sua instilação intravesical produz efeitos urotóxicos, os quais são parcialmente revertidos pelo MESNA (POHL et al., 1989).

Quanto ao segundo aspecto, ou seja, a impossibilidade da dexametasona de evitar, significativamente, o desenvolvimento de fenômenos inflamatórios relacionados à cistite hemorrágica, quando são levados em conta os achados cistoscópicos, possivelmente isso se deve ao fato da dexametasona não impedir a ação tóxica inicial da acroleína e de outros metabólitos urotóxicos. Assim, embora ocorra a lesão superficial do urotélio, a dexametasona minora ou inibe o desenrolar da cascata inflamatória que culminaria com a instalação de um quadro hemorrágico. Isso se dá, naturalmente, em razão da dexametasona ser inibitória de passos importantes no mecanismo inflamatório, tais como a produção de prostaglandinas, de leucotrienos, de algumas citocinas pró-inflamatórias, bem como de óxido nítrico (SOUZA-FILHO et al., 1997; LIMA, 1994; GOULDING et al., 1990; BUTTERFIELD & GLEICH, 1989; CIRINO & FLOWER, 1987).

A integridade dos epitélios de todos os departamentos orgânicos é uma condição importante no processo de defesa contra os agentes agressores de qualquer natureza. No caso do urotélio, além deste aspecto, leva-se em consideração a existência de uma camada de muco epitélial, representada, sobretudo, por glicosaminoglicanos, cuja função é antiaderente, evitando, dessa forma, que bactérias ou compostos tóxicos se fixem na mucosa. Este efeito antiaderente é importante na adaptação das células vesicais ao seu *ambiente* intravesical, protegendo-as contra os agentes agressores (PARSON, 1986). Na cistite hemorrágica (CH), uma vez que o agente tóxico é excretado por via urinária e sua ação é local, a integridade do epitélio assume uma importância fundamental na proteção contra os efeitos deletérios, conseqüentes ao uso dos agentes alquilantes.

Desde os estudos pioneiros de Cox, demonstrando que a acroleína era a responsável pela urotoxicidade na CH, sabe-se que a ação da acroleína é local, ou seja, o

dano inicial tem início com o contato da acroleína com o urotélio (COX, 1979). Concordante com o estudo de Cox, neste ensaio clínico, pode-se observar que uma ampla maioria dos pacientes tratados com ifosfamida, mesmo em se tratando daqueles cujo esquema profilático para CH era o padrão (MMM), ou seja, tratados com 3 doses de MESNA, apresentou graus de erosão urotelial não observados nos pacientes do grupo de referência.

Therman e colaboradores, em estudo experimental utilizando microscopia ótica, demonstraram que a lesão inicial na CH era a ruptura da membrana intraluminal, o que viabilizaria, sobremaneira, o contato dos produtos urinários tóxicos com as camadas mais profundas do epitélio vesical, produzindo descolamento das células uroteliais e exposição da membrana basal (THERMAN et al., 1987). Referido contato desencadearia a produção de mediadores inflamatórios, sendo que dentre eles vale destacar o PAF e óxido nítrico (NO) por terem um papel preponderante na patogênese da CH (RIBEIRO et al., 2002; ZIMMERMAN, 1992). Na conformidade dos dados atrás referenciados, tornou-se possível constatar, neste ensaio clínico, que os fenômenos inflamatórios foram mais intensamente registrados, na medida em que mais eram observados observava erosões uroteliais. Ademais, tais fenômenos, representados, sobretudo, por exocitose, edema e congestão vascular, todos que, conforme foi relatado em capítulos anteriores desta publicação, são favorecidos pela ação de substâncias pró-inflamatórias como o PAF e o NO, diminuíram de intensidade com a associação de dexametasona ao MESNA, nos esquemas de profilaxia da CH. Esses dados ratificam os resultados obtidos experimentalmente (RIBEIRO et al., 2002; MORAIS, 2000).

Ainda no que diz respeito à patogênese da CH, há dois outros trabalhos experimentais, com inferências sobre importantes aspectos, que merecem ser destacados:

O primeiro desses trabalhos apresentou resultados que corroboraram a idéia de que a integridade do urotélio é fundamental na prevenção do desenvolvimento da CH. Nesse caso, os autores utilizaram fator de crescimento de ceratinócitos, cujo efeito é induzir crescimento de células epiteliais em uma variedade de tecidos, inclusive urotelial, e concluíram que essa substância tem um papel na prevenção de CH, devido ao seu rápido efeito trófico sobre o urotélio, fato que mantém a integridade epitelial (ULICH, 1997).

O segundo trabalho sugere uma possível especificidade da ação tóxica dos derivados da ciclofosfamida no desencadeamento de CH. Nesse estudo, os autores realizaram colocistoplastia em ratos Sprague-Dawler, administraram CFS em dose única e observaram que isto não resultou em lesões no segmento de cólon utilizado para colocistoplastia (RODÓ, 2001).

No presente estudo clínico, mesmo utilizando apenas biópsia vesical e levando-se em conta o fato de que todos os pacientes utilizaram esquemas uroprotetores profiláticos de CH, pode-se observar que a grande maioria dos espécimes vesicais apresentava algum grau de erosão urotelial, embora a maioria dos achados inflamatórios tenha se concentrado na lâmina própria, e nenhum na muscular própria. Vale ressaltar que apenas uma minoria desses pacientes apresentava algum grau de sintomatologia urinária. Kimura e colaboradores, em um estudo que objetivava avaliar a importância da cistoscopia no seguimento de pacientes submetidos a regimes terapêuticos com ciclofosfamida em altas doses, por longos períodos, e em que também se chegou à conclusão que lesões precoces do urotélio aparecem antes do surgimento da hematúria, sugeriram que cistoscopias periódicas fossem realizadas em pacientes desse tipo (KIMURA et al, 1998). Considerando que a patogênese da CH, seja ela induzida por CFS ou IFS, é muito assemelhada, e levando-se em conta os resultados obtidos com a hematúria e os achados cistoscópicos como parâmetros, acredita-se que a assertiva de Kimura seja válida também para este estudo.

Não obstante se saiba, já há algum tempo, que os glicorticóides são inibidores da síntese de IL-1 e TNF- α (BARNES & ADCOCK, 1993), somente recentemente, através de estudo experimental, ficou demonstrado que estas citocinas estão envolvidas na produção da NOS no urotélio e, por conseqüência, com as lesões aí observadas, quando do uso da ifosfamida (RIBEIRO et al., 2002). Essa última constatação é fruto dos estudos desenvolvidos pelo LAFICA, através dos quais foi sugerida uma provável participação do PAF, além de ter sido demonstrado o papel do NO na patogênese da CH induzida por oxazafosforina (SOUZA-FILHO, 1997, RIBEIRO et al., 1998).

Os resultados das análises histológicas dos espécimes vesicais, neste estudo, ratificaram os achados cistoscópicos, uma vez que o MESNA não foi capaz de suprimir, completamente, o surgimento de cistite, ainda que seja ela apenas uma expressão microscópica e não clínica. Esses achados, referentes ao aparecimento de cistites, são parcialmente suprimidos pela concomitância do uso do MESNA e dexametasona. Por outro lado, a utilização da primeira dose de MESNA e a substituição das demais por DEXA produziram uma uroproteção comparável ao regime profilático rotineiro (MMM). Daí concluir-se que a dexametasona potencializa a ação uroprotetora do MESNA, mas, isoladamente, não evita a cistite microscópica. O sinergismo, provavelmente, deve-se ao fato das duas drogas atuarem através de mecanismos distintos.

Sabe-se ainda que a redução da síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, obtida com a administração de corticóides, resulta em uma diminuição da migração leucocitária para a área inflamatória (SCHLEIMER, 1990; MANCUSO, 1995). Essa ação dá-se, em parte, através da inibição da produção de IL-1 e TNF- α , uma vez que a síntese da NOS parece ser mediada por estas citocinas (RIBEIRO et al., 2002). Outras citocinas, incluindo IL-1, IL-6, IL-8, interferon- γ e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos, todas com uma reconhecida ação pró-inflamatória, têm suas produções reduzidas quando da administração de corticóides (BARNES & ADCOCK, 1993; BARNES, 1998; AUPHAN et al., 1995). Adicionalmente, no que concerne às quimiocinas, a interferência dos glicorticóides na ação leucocitária ocorre através da inibição da produção de LTB₄, um dos mais potentes agentes quimiotáticos (BUTTERFIELD & GLEICH, 1989), como também do PAF, um importante mediador inflamatório, cuja ação acontece através de mecanismos, tais como a ativação plaquetária, na indução de migração leucocitária e formação de superóxidos, dentre eles o NO (RIBEIRO et al., 1997; RIBEIRO et al., 1991; BRAQUET, 1987).

Vale ressaltar que a dexametasona, na conformidade do modelo aqui utilizado, conseguiu inibir a exocitose de maneira significativa, fato que certamente guarda relação com a diminuição do aparecimento de fenômenos inflamatórios, uma vez que diversos mediadores inflamatórios, dentre os quais o NO, são produzidos pelos leucócitos que migram para o sítio da lesão (LIMA, 1994; SOUZA-FILHO et al., 1997). Assreuy e colaboradores, em estudo experimental, demonstraram que a inibição da migração leucocitária por lectinas vegetais reduziu, significativamente, o edema na CH em ratos, o que respalda a inferência feita no início deste parágrafo (ASSREUY et al., 1999).

Lima, em estudo experimental, utilizando o extravasamento vascular do azul de Evans, demonstrou que a dexametasona e o BN-52021 (inibidor do PAF) foram capazes de inibir os danos aos vasos sanguíneos, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (LIMA, 1994). Esse aumento na permeabilidade vascular, resultante do uso de CFS ou IFS, pode ocasionar, a depender da intensidade, desde um simples extravasamento de proteínas para o interstício, contribuindo para a formação de edema, até hialinização e focos de hemorragias. Todos esses achados foram fartamente identificados nas análises histológicas dos espécimes de biópsias vesicais utilizados no presente estudo. Coincidentemente com o estudo de Lima, no modelo utilizado neste estudo clínico, pode-se constatar que a adição de dexametasona ao MESNA inibiu o surgimento de focos hemorrágicos na lâmina própria. Tal

resultado, somado aos outros descritos anteriormente, chega a ser alentador, na medida em que cria a perspectiva não só de se maximizar a eficácia dos esquemas profiláticos de CH, como também da utilização, por via sistêmica, ainda que em protocolos clínicos, de corticosteróides, no tratamento de CH já instalada.

Dois trabalhos, concordantes com os resultados deste estudo, sugerem que os corticóides têm um importante papel na redução dos fenômenos inflamatórios da CH:

O primeiro diz respeito a um estudo retrospectivo, cujo objetivo foi estudar a ocorrência de cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, tratados entre janeiro de 1990 e julho de 1996, no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Ceará. Vale destacar que, nesse período, o uso do MESNA não era rotina naquele hospital e que a profilaxia da cistite hemorrágica (CH) se dava através de hidratação venosa, por vezes associada à administração de diuréticos. Mesmo assim, não foram observados sintomas ou anormalidades urinárias que fossem consistentes com o diagnóstico de CH. Segundo os autores, tudo levava a crer que a baixa incidência de CH foi devida ao fato de, concomitantemente com a ciclofosfamida, todos os pacientes do estudos estarem fazendo uso de 10 mg de prednisona por dia, fato que resultou em uma proteção adicional contra CH (ROCHA & OLIVEIRA, 1997). Por outro lado, à luz das observações realizadas nesse estudo clínico com ifosfamida, os dados relatados anteriormente poderiam ratificar a afirmativa de que alterações iniciais ou incipientes, observadas à cistoscopia e à microscopia, nem sempre promovem alterações no exame urinário ou resultam em quadro clínico compatível com cistite hemorrágica.

O outro trabalho está relacionado a um estudo experimental italiano, publicado em março de 1999, cujo objetivo era investigar o papel da bradicinina em induzir contração vesical e manter sua complacência em ratos tratados com ciclofosfamida, o qual demonstrou que a dexametasona, além de diminuir os efeitos inflamatórios, previne a “up-regulation” dos receptores B de bradicinina, reduzindo a contração vesical (LECCI et al., 1999).

Uma vez que o objetivo principal da ciência, mais do que a mera descrição de fenômenos empíricos, é estabelecer, mediante teorias, os princípios gerais com os quais se pode explicar e prognosticar como tais fenômenos são percebidos pelo (s) o (s) examinador (es); torna-se legítima a busca de inferir acerca de uma seqüência de eventos inflamatórios que ocorrem na CH.

Cabe destacar que se chegou à aludida elaboração teórica, através da interpretação da intensidade e da freqüência com que os eventos inflamatórios se apresentaram nos casos particulares, permitindo-se a compreensão do que ocorreu no conjunto de indivíduos

pesquisados. Ainda se admitiu, por parecer aceitável, considerar uma certa cronologia para suas ocorrências. Destarte, acredita-se que o evento resultante da agressão inicial ocorreu na região apical do urotélio, ocasionando alterações como edema, degeneração hidrópica, cujo efeito favoreceu a perda da coesão celular e uma conseqüente erosão. A princípio, a erosão se apresentou na sua forma focal superficial, representada pela descamação de células superficiais, de maneira limitada e fracional. A partir dessa etapa, na lâmina própria, pode-se perceber um certo grau de congestão vascular, edema moderado e exocitose, cuja intensidade foi proporcional à magnitude das erosões. Acredita-se que, nesse momento, conforme foi demonstrado experimentalmente (SOUZA-FILHO, 1997; GOMES, 1995; LIMA, 1994), o recrutamento celular e os estímulos para produção de substância pró-inflamatórias, destacando-se o PAF, as citocinas (TNF- α e IL-1) e o óxido nítrico (NO), tenham sido responsáveis pela fenomenal cascata inflamatória desenvolvida a seguir.

Foi sob as influências das substâncias pró-inflamatórias aludidas que se intensificou a erosão, tanto em extensão quanto em profundidade, bem como se iniciou a hemorragia. Quanto a este último fenômeno, o seu local inicial foi no espaço compreendido entre o urotélio e a lâmina própria, dispondo-se em focos em forma de faixas. Pressupondo-se resultarem da persistência dos estímulos nocivos, observou-se, seqüencialmente, que um incremento na exocitose, usualmente com a celularidade mista (granulócitos e agranulócitos), além de intenso edema e hemorragias multifocais ou difusas da lâmina própria, fizeram-se acompanhar de ulcerações uroteliais. Por último, como mecanismo regenerativo, principalmente após hemorragias, nessa seqüência, estiveram presente a hialinização e a esclerose.

5.3 Considerações finais

No caso do uso da ifosfamida, como ocorre em toda a ciência, não se espera que uma causa, isoladamente, seja suficiente para produzir todos os fenômenos que, no seu conjunto são denominados de cistite hemorrágica (CH). A interpretação dos dados obtidos, através de metodologia indutiva, permite remeter-se à crença de que é necessária a conjunção de causas que, influenciando-se mutuamente, criam uma situação em que o fenômeno CH tende a se manifestar. Assim, levando-se em conta o seu caráter experimental, salvaguardadas, no caso, as condições em que se realizou o estudo clínico acerca desta afecção, sente-se o quanto é necessário desenvolver trabalhos para definir fatores que estejam presentes e que influencia a referida situação, sejam eles causas contribuintes, contingentes ou alternativa.

Ao longo do desenvolvimento deste estudo, ficou claro que, embora as soluções encontradas tenham satisfeito às condições necessárias para desenvolver uma pesquisa de acordo com os ditames aceitos, o desenvolvimento de um modelo inteligível e, ao mesmo tempo simples, preciso, completo e verificável, capaz de fazer previsões e ajudar a utilizar os meios eficazes e apropriados para conhecer e controlar o fenômeno *cistite hemorrágica*, é uma tarefa deveras complexa, que requer esforços conjuntos, desenvolvidos através de estudos multidisciplinares e multiinstitucionais.

Dessa forma, urge sejam desenvolvidos novos estudos nessa área, objetivando, inicialmente, uma melhor compreensão da patogênese da CH em humanos, sendo que, para tanto, já existe a fundamentação experimental com inibidores específicos. A título de exemplificação, pode-se citar a pentoxifilina e a talidomida, a primeira inibidora da síntese do TNF- α e IL-1, e a segunda, da síntese do TNF- α .

Outra investigação clínica a ser desenvolvida, que já tem suficiente embasamento experimental, diz respeito ao uso de amifostina, um análogo da cisteamina (CAPIZZI, 1999), também chamada de composto WR-2721. A droga em referência foi originalmente produzida pelo Exército dos Estados Unidos da América, no final da década de 50, com o objetivo de ser usada como um agente radioprotetor para os seus militares, na eventualidade de uma guerra nuclear (SPENCER, 1995). Estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram que a citada droga tem a capacidade de proteger os tecidos normais dos efeitos citotóxicos, não só das radiações ionizantes, como de vários grupos quimioterápicos, dentre os quais poderiam ser citados os agentes alquilantes (ciclofosfamida e ifosfamida), organoplatinos (carboplatina, cisplatina), antracíclicos (doxorubicina, daunorrubicina) e taxanes (SRISWASDI et al., 2000; CAPIZZI, 1999; LAPORT et al., 1999; SPENCER, 1995). No tocante aos órgãos ou tecidos, a amifostina revelou-se citoprotetora no rim, glândula salivar, fígado, coração, nervos periféricos, pulmão e intestino delgado (SRISWASDI et al., 2000; FOSTER-NORÁ & SIDEN, 1997). Por tal motivo, a FDA (Food and Drug Administration) aprovou a amifostina (Ethyol / US Bioscience), como um novo agente citoprotetor, capaz de reduzir a toxicidade renal cumulativa, em associação com o uso repetido de cisplatina, na terapia do câncer do ovário (SPENCER, 1995). Por fim, dois estudos experimentais, realizados recentemente (BATISTA, 2002; SRIVASTAVA et al., 1999), demonstraram uma ação uroprotetora da amifostina, contra a toxicidade da ciclofosfamida e da ifosfamida.

Conhecer a forma como se processa, em todos os passos, o desenvolvimento da CH, bem como os fatores inflamatórios envolvidos nessas etapas, seria a chave para se desenhar

esquemas terapêuticos de maior eficácia, uma vez que a base do tratamento atual da CH é a profilaxia, sendo pouco o resultado prático obtido nos casos de CH já instalada.

6. CONCLUSÕES

Respeitando-se todas as condições observadas neste ensaio clínico, bem como a metodologia utilizada na execução, pode-se concluir que:

- 1- O MESNA não confere proteção plena contra o desenvolvimento de cistite, resultante do uso terapêutico de ifosfamida.
- 2- A dexametasona, associada ao MESNA, confere uma uroproteção adicional associada na profilaxia da cistite hemorrágica.
- 3- O exame sumário de urina, particularmente quando se leva em conta a hematúria, não é eficiente para identificar a cistite hemorrágica subclínica, produzida por tratamento com ifosfamida.
- 4- O exame cistoscópico é um instrumento fundamental na identificação de eventos inflamatórios iniciais na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.
- 5- O método semiquantitativo de avaliação da intensidade dos achados histológicos inflamatórios utilizados neste estudo, permitiu que fossem realizadas, com eficiência, comparações entre os grupos de indivíduos tratados diferentemente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J. D. JR.; KLAIDMAN, L. K. Acrolein-induced oxygen radical formation. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 15, p. 187-193, 1993.

AHERNE, W. Quantitative methods in histology. **J. Med. Lab. Technol.**, v. 16, p. 160-170, 1970.

ALBERT, D.H.; SNYDER, F. Biosynthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocoline by rat alveolar macrophages. **J. Biol. Chem.**, v. 25, p. 97-102, 1983.

ALVES A.P.N.N.; ROCHA FILHO F.D.; FERREIRA F.V.A. Estudo Morfológico, Morfométrico e Imunohistoquímico da População Leucocitária da Gengiva Humana Em Uma Região tropical. Fortaleza-Ceara-Brasil. **Periondontia**, v. 5, n.3, p. 287-295, 1996.

ARNOLDT, C.A.S.; BLIS, F.M.; McCULLY, C. L.; COLVIN, O. M.; POPLACK, D.G. Cerebrospinal fluid penetration of active metabolites of cyclophosphamide and ifosfamide in rhesus monkeys. **Cancer Res.**, v 48, p. 2113-2115, 1988.

ASSREUY, A.M.; MARTINS, G.J.; MOREIRA, M.E.; BRITO, G.A.; CAVADA, B.S.; RIBEIRO, R.A.; FLORES, C.A. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by glucose-mannose binding plant lectins. **J. Urol.**, v. 161, n. 6, p. 1988-93, 1999.

AUPHAN, N.; DIDONATO, J.A.; ROSETTE, C.; HELMBERG, A.; KARI, M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- κ B synthesis. **Science**, v. 270, p. 286-290, 1995.

BARNES, P.J. Antiinflammatory actions of glucorticoids: molecular mechanisms (editoreal). **Clin. Sci.**, v. 94, p. 557-572, 1998.

BARNES, P.J.; ADCOCK, I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. **Trends. Pharmacol. Sci.**, v. 14, p. 436-441, 1993.

BATISTA, C. K. L. P. **Modelo de cistite hemorrágica induzida por injeção intravesical de acroleína- efeito uroprotetor de compostos tióis (mesna, glutathiona e amifostina)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará, 2002. 165 p.

BOMMELAER, G.; BRULEY DES VARANNES, S.; FLEJOU, J.F.; MATYSIAK, T., POYNARD, T., RICHARD, A.; SLAMA, A.; MEGRAUD, F. The relationship between the histological virulence of *H. pylori* infection and the *cagA* status of the bacteria. **Gastroenterol. Clin. Biol.**, v. 25, n. 12, p. 1084-1089, 2001.

BRADE, W.; SEEBER, S.; HERDRICH, K. Comparative activity of ifosfamide and cyclophosphamide. **Cancer Chemother. Pharmacol.** v.18, suppl. 2, p. S 1-S 9, 1986.

BRADE, W.P.; HERDRICH, K.; VARINI, M. Ifosfamide - pharmacology, safety and therapeutic potential. **Cancer Treat. Rev.**, v. 12, p. 1, 1985.

BRAMWELL, V.H.C.; MOURIDSEN, H.T.; SANTORO, et al. Cyclophosphamide versus ifosfamide. Final report of a randomized phase II trial in adult soft tissue sarcoma. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, v. 23, p. 311-321, 1987.

BRAQUET, P.; TOUQUI, L.; SHEN, T.Y et al. Perspectives in platelet-activating factor reseach. **Pharmacol. Rev.**, v. 39, n.2, p. 97-145, 1987.

BROCK, N. Oxazaphosphorine cytostatics: past – present – future. **Cancer Res.**, v. 49, p. 1-7, 1989.

BROCK, N. The oxazaphosphorines. **Cancer Treat. Rev.**, v. 10, suppl. A, p. 3-15, 1983.

BROCK, N.; HILGARD, P.; PENKERT, M. Basis and new developments in the field of oxazaphosphorines. **Cancer Invest.**, v. 6, n. 5, p.513-523, 1988.

BROCK, N.; HILGARD, P.; POHL, J.; ORMSTAD, K.; ORRENIUS, S. Pharmacokinetics and mechanism of action of detoxifying low-molecular-weight thiols. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v.108, n. 1, p. 87-97, 1984.

BROCK, N.; POHL, J. The development of mesna for regional detoxification. **Cancer Treat. Rev.**, v. 10, p. 33-43, 1983.

BROCK, N., POHL; J., STEKAR; J. Studies on the urotoxicity of oxazaphorine cytostatics and and its prevention. I. Experimental studies on the urotoxicity of alkylating compounds. **Eur. J. Cancer**, v. 17, n. 6, p. 595-607, 1981.

BROCK, N.; STEKAR, J. et al. Acrolein, the causative factor of urotoxic side-effects of cyclophosphamide, ifosfamide, trofosfamide and sufosfamide. **Arzneimittelforschung**, v. 29, n. 4, p. 659-661, 1979.

BUBLEY, G. J.; OGATA, G. K.; DUPUIS, N. P.; TEICHER, B. ^a Detection of sequence-specific antitumor alkylating agente DNA damage from cells treated in culture and from a patient. **Cancer Res.**, v. 54, p. 6325, 1997.

BURKET, H. Clinical overview of mesna. **Cancer Tret. Rev.**, v. 10, suppl. A, p. 175-181, 1983.

BUTTERFIELD, J.H ; GLEICH, G.J. Anti-inflammatory effects of glucorticoids on eosinophils and neutrophils, In: **Anti-inflammatory steroid action**, Academic Press, p 151-179, 1989.

CALABRESI, P.; CHABNER, B.A. Chemotherapy of neoplastic disease, section XII: alkylating agents. In: GOODMAN AND GILMAN'S (eds). **The pharmacological basis of therapeutics**, 8th ed., Singapore: Mc Graw-Hill Book co. p. 1209-1215, 1992.

CAPIZZI, R. L. Clinical status and optimal use of amifostine. **Oncology**, v. 13, n. 1, p. 47-59, 1999.

CIRINO, G.; FLOWER, R. J. Human recombinant lipocortin inhibits prostacyclin production by human umbilical artery. **Prostaglandins**, v. 34, p. 59-62, 1987.

COLVIN, M. The comparative pharmacology of cyclophosphamide and ifosfamide. **Semin. Oncol.**, v. 9, p. 2, 1982.

COLVIN, O. M. Pharmacology of cancer chemotherapy, section 3: antitumor alkylating agents. In: DeVITA, V.T.JR.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, A.S. (eds). **Cancer; Principles and practice of oncology**, 6th ed.. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilhins, Cap. 19, sec. 3, p. 363-376, 2001.

COOPER, M.R. Basis for major current therapies for cancer. In: Murphy GP, Lawrence W, Jr.; Lenhard RE, Jr. (ed). **Clinical Oncology**, 2nd . ed..Atlanta: Library of congress, p. 96-134, 1995.

COX, P.J. Cyclophosphamide cystitis-Identification of acrolein as the causative agent. **Biochem. Pharmacol.**, v. 28, p. 2045-2049, 1979.

CUNHA, F.Q.; LORENZETTI, B.B.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.I. Interleukin-8 as a mediator of sympathetic pain. **Br. J. Pharmacol.**, v.10 , n. 3, p. 765-767, 1991.

DAVIS, K. L.; MARTIN, E.; TURKO, I. V.; MURAD, F. Novel effects of nitric oxide. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** , v. 41, p. 203-236, 2001.

DENSON, M.A; GRIEBLING, T.L.; COHEN, M.B.; KREDER, K.J. Comparison of cystoscopic and histological findings in patients with suspected cystitis. **J. Urol.**, v. 164, n. 6, p. 1921, 2000.

DeVRIES. C.R. ; FREIHA, F.S. Hemorrhagic cystitis: a review. **J. Urol.**, v. 143, n. 1, p. 1-9, 1990.

DJAVAN, B.; KADESKY, K.; KLOPUKH, B.; MARBERGER, M.; ROEHRBORN, C.G. Gleason scores from prostate biopsies obtained with 18-gauge biopsy needles poorly predict Gleason scores of radical prostatectomy specimens. **Eur. Urol.**, v. 36, n. 5, p. 455, 1999.

DROLLER, M.J.; SARAL, R.; SANTOS, G. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **Urology**, v. 20, n. 3, p. 256-258, 1982.

EFROS, M. D.; AHMED, T.; COOMBE, N.; CHOUDHURY, M. Urologic complications of high-dose chemotherapy and bone marrow transplantation. **Urology**, v.43, n. 3, p. 355-360, 1994.

EHRlich, R.M.; FREEDMAN, A.; GOLDSOBEL, A.B. et al. The use of sodium 2-mercaptoethane sulfonate to prevent cyclophosphamide cystitis. **J.Urol.**, v.131, n. 5, p. 960-962, 1984.

ELIAS, A D.; EDER, J.P.; SHEA, T. et al. High dose ifosfamide with mesna uroprotection: a phase I study. **J. Clin. Oncol.**, v. 8, n. 1, p. 170-178, 1990.

FERNANDES, M.G.M.; FERREIRA, F.V.A.; FERREIRA, S.N.H.; SUCUPIRA, S.M.L.; RIBEIRO, A.V.M.F.; ROCHA FILHO, F.D.; FERREIRA, G.; AMORIM, L.H.M.; BARENHORST, S.H.B.; MESQUITA, S.M. MIB1 and p53 expression in penile invasive and intraepithelial squamous HPV-related lesions. **Rev. Bras. Cancerol.**, v. 48, n 1, p. 1x-2x, 2002.

FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q., LORENZETTI, B. B., MICHELIN, M.A.; PERRETTI, M.; FLOWER, R. J.; POOLE, S. Role of lipocortin-1 in the anti-hyperalgesic actions of dexamethasone. **Br. J. Pharmacol.**, v. 121, n. 5, p. 883-888, 1997.

FERREIRA, F.V.A.; FERREIRA, S.N.H.; FERNANDES, M.G.M.; SUCUPIRA, S.M.L.; ROCHA FILHO, F.D.. MIB1 and p53 expression in cervical, vulvar and penial low, high grade intraepithelial and invasive squamous lesions. **Patología, México**, v. 38, n. 2, p. 29, 2000.

FORSYTH, K.D.; TALBOT, V. Role of glucocorticoids in neutrophil and endothelial adhesion molecule expression and function. **Med. Inflamm.**, v. 1, p. 101-106, 1992.

FOAD, B.S.I. ; HESS, E.V. Urinary bladder complications with cyclophosphamide therapy. **Arch. Intern. Med.**, v. 136, n. 5, p. 616-619, 1976.

FOSTER-NORA, J. A.; SIDEN, R. Amifostine for protection from antineoplastic drug toxicity. **Am. J. Health Syst. Pharm.**, v. 54, n. 7, p. 787-800, 1997.

FRAISER, L.H.; KANEKAL, S. ; KEHRER, J.P. Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem. **Drugs.**, v. 42, n. 5, p. 781, 1991.

FUKUSHIMA, M. D.; ARAI, M.; COHEN, S.M.; JACOBS, J.B.; FRIEDEL, G.H.: Scannig electron microscopy of cyclophosphamide-induced hyperplasia of the rat urinary bladder. **Lab. Invest.**, v. 44, n. 2, p. 89-96, 1981.

GOLDIN, A . Ifosfamide in experimental systems. **Semin. Oncol.**, v. 9, n. 4 supl. 1, p. 14-23, 1982.

GOMES, T.N.A; SANTOS, C.C.; SOUZA-FILHO, M.V.P.; CUNHA, F.Q.; RIBEIRO, R.A. Participation of TNF- α and IL-1 in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 28, p. 1103-1108, 1995.

GOREN, M.P. Determination of urinary 2-and 3-dechloroethylated metabolites of ifosfamide by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography Biom. Applic.*, v. 570, n. 2, p. 351-359, 1991.

GOREN, M.P. Oral Mesna: A Review. *Semin. Oncol.*, v. 19, n. 6, Suppl 12, p. 65-72, 1992.

GOREN, M. P.; McKENNA, L. M.; GOODMAN, T. L. Combined intravenous and oral mesna in outpatients treated with ifosfamide. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, v. 40, p. 371-375, 1997.

GOREN, M.P. Similar bioavailability of a single-dose oral and intravenous mesna in the blood and urine of healthy human subjects. *Clin. Cancer Res.*, v. 4, n. 10, p.2313, 1998.

GOREN, M.P.; HSU, L.C.; LI, J.T. Reduction of dimesna to mesna by the isolated perfused rat liver. *Cancer Res.*, v. 58, n.19, p. 4358-4362, 1998.

GOULDING, N. J.; GODOLPHIN, J. I.; SHARLAND, P. R.; PEERS, S. H.; SAMPSON, M.; MADDISON, P. J.; FLOWER, R. J. Anti-inflammatory lipocotin 1 production by peripheral blood leucocytes in response to hydrocortisone. *Lancet*, v. 335, n. 8703, p. 1416-1418, 1990.

GRAY, K.J.; ENGELMANN, U.H.; JOHNSON, E.H. ; FISHMAN, I.J. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. *J. Urol.*, v. 136, N. 6, p. 497-500, 1986.

GRINBERG-FUNES, D.J.; SHELDON, C. ; WEISS, M. The use of prostaglandin F2 alpha for the prophylaxis of cyclophosphamide induced cystitis in rats. *J. Urol.*, v. 144, N. 6, p. 1500-1504, 1990.

GWEON, P.; SHANBERG, A. Treatment of cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis with neodymium: YAG laser in pediatric patients. *J. Urol.*, v. 157, n. 6, p. 2301-2302, 1997.

HAN, Z.; CHANG, L.; YAMANISHI, Y.; KARIN, M.; FIRESTEIN, G.S. Joint damage and inflammation in c-Jun N-terminal kinase 2 knockout mice with passive murine collagen-induced arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 46, n.3, p. 818-823, 2002.

HICKS, R.M. The permeability of rat transitional epithelium. Keratinization and the barrier to water. **J. Cell Biol.**, v. 28, p. 21-31, 1966.

HIGGS, D., NAGY, C., EINHARN, L. H. Ifosfamida: a clinical review. **Semin. Oncol. Nurs.**, v. 5, n. 2, supl 1 p. 70-77, 1989.

ITO, T.; KUMAMOTO, H.; HORINOUCHE, H.; YUKISHIGE, K.; SUGIHARA, R.; FUJIMOTO, S.; TSUDA, T. Adhesion molecule expression in experimental myositis. **Muscle Nerve**, v. 25, n. 3, p. 409-18, 2002.

JANG, D.; MURRELL, G. A. Nitric oxide in arthritis. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 24, n. 9, p. 1511-1519, 1998.

JERDE, T.J.; BJORLING, D.E.; STEINBERG, H.; WARNER, T.; SABAN, R. Determination of mouse bladder inflammatory response to E. coli lipopolysaccharide. **Urol. Res.** v. 28, n. 4, p. 269-73, 2002.

KATS, A.; EPELMAN, S.; ANELLI, A.; GORENDER, E. F.; CRUZ, S. M.; OLIVEIRA, R. M., MARQUES, L. A. A prospective randomized evaluation of three schedules of Mesna administration in patients receiving an ifosfamide-containing chemotherapy regimen: sustained efficiency and simplified administration. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 121, p. 128-131, 1995.

KEHRER, J. P.; BISWAL, S. S. The molecular effects of acrolein. **Toxicol. Sci.**, v. 57, p. 6-15, 2000.

KIMURA, M.; TOMITA, Y.; MORISHITA, H.; TAKAHASHI, K. Presence of mucosal change in the urinary bladder in nonhematuric patients with long-term exposure and/or accumulating high-dose cyclofosfamide. Possible significance of

follow-up cystoscopy on preventing development of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **Urol. Int.**, v. 61, n.1, p. 8-10, 1998.

KLEIN, O .H.; WICKRAMANYAKE, P.D.; CHRISTIAN, E; COERPER, C. Therapeutic effects of single push or fractionated injections or continuous infusions of oxazaphosphorines (cyclophosphamide, ifosfamide, ASTA Z7557). **Cancer**, v. 54, n. 6, supl 1, p. 1103-1203, 1984.

KOLB, N.S.; HUNSAKER, L.A ; VANDER-JAGT, D.L. Aldose reductase-catalyzed reduction of acrolein: implications in cyclophosphamide toxicity. **Mol. Pharmacol.**, v. 45, n. 4, p. 797-801, 1994.

KUROWSKI; V.; WAGNER, T. Urinary excretion of ifosfamide, 4-hydroxyifosfamide, 3- and 2-dechloroethylifosfamide, mesna, and dimesna in patients on fractionated intravenous ifosfamide and concomitant mesna therapy. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v.39, n.5, p. 431-439, 1997.

LAPORT, G. F.; FLEMING, G.F.; ZIMMERMAN, T. M.; GRINBLATT, D. L.; WAGGONER, S. E.; WILLIAMS, S. F. A phase I/II dose escalation trial of carboplatin with amifostine pretreatment to augment high dose cyclophosphamide with autologous peripheral blood stem cell support for patients with epithelial ovarian cancer (EOC). In: Annual Meeting of **American Society of Clinical Oncology**, 1999 , abstract: 230.

LECCI, A.; MEINI, S.; PATACCHINI, M.; TRAMONTANA, M.; GIULIANI, S.; CRISCOVLI, M.; MAGGI, C. A. Effect of dexamethasone on cyclophosphamide-induced cystitis in rats: lack of relation with bradicykinin B1 receptor-mediated motorresponses. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 369, n. 1, p. 99-106, 1999.

LEESON, C.R. Histology, histochemistry and electron microscopy of the transitional epithelium of the rat urinary bladder in response to induced physiological changes. **Acta. Anat.**, v. 48, p. 297, 1962.

LEVINE, L.A.; JARRARD, D.F. Treatment of cyclofosfamide-induced hemorrhagic cystitis with intravesical carboprost tromethamine. **J. Urol.**, v. 132, p. 1134, 1984.

LEWIS, L.D.; FITZGERALD, D.L.; MOHAN, P; THATCHER,N; HARPER, P. G. The pharmacokinetics of ifosfamide give as long and short intravenous infusions in cancer patients. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v. 31, n. 1, p. 77-82, 1991.

LI, L.; HAMILTON, R. F. Jr.; HOLIAN, A. Effect of acrolein on human alveolar macrophage NF- κ B activity. **Am. J. Physiol.**, v. 277, p. L 550- L557, 1999.

LIMA, M.V.A. **Estudo dos mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza , 1994. 113 p.

LIND, M. J., ROBERTS, H. L.; THATCHER, N.; IDLE, J. R. The effect of route administration and fractionation of dose on the metabolism of ifosfamide. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 26, p. 105-11, 1990.

MACEDO, J. M. S.; OLIVEIRA, I. R. Farmacologia do sistema endócrino, seção 7: corticosteróides. IN: SILVA, P. (ed). **Farmacologia**, sexta edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, cap. 83, p. 826-841, 2002.

MANCUSO, F.; FLOWER, R. J.; PERRETTI, M. Leukocyte transmigration, but not rolling or adhesion, is selectively inhibited by dexamethasone in the hamster post-capillary venule. **J. Immunol.**, v. 155, p. 377-386, 1995.

MARLETTA, M. A. Nitric oxide synthase: aspects concern structure and catalysis. **Cell**, v. 78, n. 6, p. 927-930, 1994.

MOHRMANN, M.; ANSORGE, S.; SCHÖNFELD, B.; BRANDIS, M. Dithio-bis-mercaptoethanesulphonate (DIMESNA) does not prevent cellular damage by metabolites of ifosfamide and cyclophosphamide in LLC-PK1 cells. **Pediatr. Nephrol.**, v. 8, p. 458-465, 1994.

MONCADA, S.; PALMER, M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathology and pharmacology. **Pharmacol. Rew.**, v. 43, n.2, p. 109-142,1991.

MONCRIEFF, M., FOTT, A . Fanconi syndrome after ifosfamida. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 23, n. 2, p. 121, 1989.

MORAIS, M. M. **Alternativas terapêuticas na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofodfamida e ifosfamida com drogas anti-inflamatórias: um estudo experimental comparativo com o mesna.** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Ceará, 2000, 212 p.

NGUYEN, H., FINKELSTEIN, E., REZNICK, A ., CROSS, C., VAN DER VLIET, A. Cigarette smoke impairs neutrophil respiratory burst activation by aldehyde-induced thiol modification. **Toxicology**, v. 160, p. 207-217, 2001.

NORPOTH, K. Studies on the metabolism of isophosphamide (nsc-109724) in man. **Cancer Treat. Rep.**, v. 60, n. 4, p. 437-443, 1976.

OLD, L.J. Tumor necrosis factor (TNF). **Science**, v. 230, p. 630, 1985.

PARSON, C. L. Successful management of radiation cystitis with sodium pentosanpolysulfate. **J. Urol.**, v. 136, p. 813-814, 1986.

PEDERSEN-BJERGAARD, J.; ERSBOLL, J.; HANSE, V.L., SORENSEN, B. L.; CHRISTOFFERSEN, K.; HOU-JENSEN, K.; NISSEN, K.; KNUDSEN, J. B.; HANSEN, M. M. Carcinoma of the urinary bladder after treatment with cyclophosphamide for non-Hodgkin's lymphoma. **N. Engl. J. Med.**, v. 318, n. 16, p.1028-1032, 1988.

POHL, J. ; STEKAR, J.; HILGAR, P. Chloroacetaldehyde and its contribution to urotoxicity during treatment with cyclophosphamide or ifosfamida – an experimental study. **Arzneimittelforschung.**, v. 39, n. 6, p. 704-705,1989.

PYERITZ, R.; DROLLER, M.J.; BENDER, W.L., SARAL, R. An approach to control of massive hemorrhage in cyclophosphamide-induced cystitis by intravenous vasopressin: a case report. **J. Urol.**, v. 120, n. 2, p. 253-254, 1978.

RIBEIRO, R.A ; FLORES, C.A ; CUNHA, F. Q. ; FERREIRA, S.H. IL-8 causes in vivo neutrophil migration by a cell-dependent mechanism. **Immunology**, v. 73, n. 4, p. 472-477, 1991.

RIBEIRO, R. A ; SOUZA-FILHO, M.V.P.; SOUZA, M.H.L.P.,; OLIVEIRA, S.H.P.; COSTA, C.H.S.; CUNHA,F.Q. ; FERREIRA, S.H. the role of resident mast cells and macrophages in the neutrophil migration induced by LTB₄, FMLP and C5a des arg. **International Arch. Allerg. Imm.**, v. 112, n. 1, p. 27-35, 1997.

RIBEIRO, R.A; SOUZA-FILHO, M.V.P.; SANTOS, C.C. et al. Involvement of nitric oxide and tumor necrosis factor in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. In: **International Cancer Congress**, 17, p. 227-231, 1998.

RIBEIRO, R.A.; FREITAS, H.C.; CAMPOS, M.C.; SANTOS, C.C.; FIGUEIREDO, F.C.; 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. 2229-34, 2002.

ROCHA, F.A.C.R.; OLIVEIRA, K.R.B. Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in SLE. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 37, n. 2, p. 89-92, 1997.

ROCHA, M.F.; MAIA, M.E.T.; BEZERRA, L.R.P.S.; LYERLY, D.M.; GUERRANT, R.L.; RIBEIRO, R.A ; LIMA, A A M. *Clostridium difficile* toxin A-induced the release of a neutrophil chemotactic factors from rat peritoneal macrophages: role of IL-1, TNF-a and Leukotrienes. **Infec. Immun.**, v.66, nº10, p.4910-4916, 1998.

RODÓ, J. , FARRÉ, X.; MARTIN, E. Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats that underwent colostomy: experimental study. **J. Urol**, v. 165, n. 2, p. 660-666, 2001.

RUSSO, P. Urologic emergencies in the cancer patient. **Semin. Oncol.**, v. 27, n. 3, p. 284, 2000.

SANNINO, P.; SOUSHA, S. Demonstration of estrogen receptors in paraffin wax sections of breast carcinoma using the monoclonal antibody 1D5 and microwave oven processing. **J. Clin. Pathol.**, v. 47, n. 1, p. 90-92, 1994.

SCHEULEN, M.E.; NIEDERLE, N.; BREMER, K.; SCHVITTE, J.; SEEBERS, S. Efficacy of ifosfamide in refractory malignant diseases and uroprotection by mesna: results of a clinical phase II study with 151 patients. **Cancer Treat. Rev.**, v. 10, p. 93, 1983.

SCHLEIMER, R. P. Effects of glucocorticoids on inflammatory cells relevant to their therapeutic applications in asthma. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 141, p. 59-69, 1990.

SCHULTZ, J. B.; MATTHEWS, R. T.; KLOCKGETHER, T. DICHGANS, J.; BEAL, M. F. The role of mitochondrial dysfunction and neuronal nitric oxide in animal models of neurodegenerative disease. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 174, n. 1-2, p. 193-197, 1997.

SOUZA-FILHO, M.V.P.; LIMA, M.V.A.; POMPEU, M.M.L.; BALLEJO, G.; CUNHA, F.Q. AND RIBEIRO, R.A. Involvement of Nitric Oxide in the Pathogenesis of Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis. **Am. J. Pathol.**, v. 150, n. 1, p. 247-256, 1997.

SPENCER, C. M.; GOA, K. L. Amifostine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. **Drugs**, v. 50, n. 6, p. 1001-1031, 1995.

SRISWASDI, C.; JOOTAR, S.; GILES, F. J. Amifostine and hematologic effects. **J. Med. Assoc. Thai.**, v. 83, n. 4, p. 374-382, 2000.

SRIVASTAVA, A.; NAIR, S. C.; SRIVASTAVA, V. M.; BALAMURUGAN, A. M.; JEYASEELAN, L.; CHANDY, M.; GUNASEKARAN, S. Evaluation of uroprotective

efficacy of amifostine against cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis. **Bone Marrow Transplant**, v. 23, n. 5, p. 463-467, 1999.

STILLWELL, T.J. ; BENSON, R.C. Cyclophosphamide-Induced hemorrhagic cystitis – A review of 100 patients. **Cancer**, v. 61, n. 3, p. 451-457, 1988.

THEMAN, H.; OBERDORF, E.; BROCK, N. ; POHL, J. Electron Microscopic Investigations of Cyclophosphamide-Induced Lesions of the Urinary Bladder of the Rat and Their Prevention by Mesna. **Urol. Int.** v. 42, n. 1, p. 37-43, 1987.

TRUMP, D.L.; SMITH, D.C. Terapias sistêmicas. In: LOVE, RR. **Manual de Oncologia Clínica**, sexta edição, São Paulo, p. 210-232, 1998.

ULICH, T. R.; WHITCOMB, L.; TANG, W. ; TRESSEL, P. O'C.; TARPLEY, J.,; YI, E.S.; LACEY, D. Keratinocyte growth factor ameliorates cyclophosphamide-induced ulcerative hemorrhagic cystitis. **Cancer Research**, v. 57, n. 3, p. 472-475, 1997.

WAAGE, A ; SLUPPAUG, G.; SHALABY, R. Glucocorticoids inhibit the production of IL-6 from monocytes, endothelial cells and fibroblasts. **Eur. J. Immunol.**, v. 20, n. 11, p. 2439-2443; 1990.

WAGNER, T. Ifosfamide Clinical Pharmacokinetics. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 26, n. 6, p. 439-456, 1994.

WAGNER, T.; HEYDRICH, D.; JORK, T.; VOELKER, G.; HOHORST, H. J. Comparative study on human pharmacokinetics of activated ifosfamide and cyclophosphamide by modified fluorometric test. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 100, p. 95, 1981.

WRIGHT, J.E.; ELIAS, A.; TRETAKOV, O.; HOLDEN, S.; ANDERSEN, J.; WHEELER, C.; SCHWARTZ, G.; ANTMAN, K. ROSOWSKY, A.; FREL, E. High-dose ifosfamide, carboplatin, and etoposide pharmacokinetics: correlation of plasma

drug levels with renal toxicity. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 36, N. 6, p.345-351, 1995.

ZALUSPSKI, M., BAKER, L.H. Ifosfamide. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 80, n. 8, p. 556-566, 1988.

ZAMLAUSKI-TUCKER, M.J.; MORRIS, M.E. ; SPRINGATE, J.E. Ifosfamide metabolite chloroacetaldehyde causes Fanconi syndrome in the perfused rat kidney. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 129, n. 1, p. 170-175, 1994.

ZIMMERMAN, G.A.; PRESCOTT, P.M.; Mc INTYRE, T.M. Endothelial cell interactions with granulocytes, **Imun. Today**, v. 13 , n. 3, p. 93-99, 1992.

ANEXOS

ANEXO I

ESCALA DE DESEMPENHO DE KARNOFSKY

ESCORE	ESTADO CLÍNICO
100	Normal, nenhuma queixa, sem evidência clínica da doença.
90	Capaz de continuar a atividade normal; sintomas menores da doença.
80	Atividades normais com esforço, alguns sintomas da doença.
70	Mantém os cuidados pessoais, porém incapaz de continuar as atividades normais ou trabalho ativo.
60	Requer auxílio ocasional, mesmo que seja para os cuidados pessoais.
50	Requer auxílio considerável e o cuidado médico freqüente.
40	Incapacitado: requer o cuidado e o auxílio especial.
30	Incapacitado severamente: a hospitalização é indicada, morte não iminente.
20	Muito doente, hospitalização mandatória, tratamento ativo necessário.
10	Moribundo, progressão para o óbito.

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estudo do efeito da Dexametasona na Profilaxia da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém você não deve participar contra sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Responsáveis: Drs. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro e Marcos Venício Alves Lima.

O abaixo-assinado,.....,anos, RG de N°....., prontuário (Instituto de Câncer do Ceará)....., declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, um ensaio clínico cooperativo em que estarão envolvidos o Laboratório da Inflamação e do Câncer do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará e os Serviços de Oncologia Clínica e Uro-oncologia do Instituto de Câncer do Ceará. O abaixo assinado está ciente de que:

- 1- O objetivo da pesquisa é avaliar a substituição de uma ou duas últimas doses de MESNA, medicamento normalmente administrado com o quimioterápico, por dexametasona, outro medicamento que possui ação antiinflamatória, no tratamento convencional com três doses, como meio para evitar o aparecimento de cistite hemorrágica (inflamação da bexiga), causada por ifosfamida em humanos. Esses são medicamentos necessários ao seu tratamento.
- 2- Este estudo é baseado em dados obtidos em estudos laboratoriais que demonstram ser a substituição parcial do MESNA por dexametasona capaz de evitar a cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.
- 3- A cada ciclo de quimioterapia o voluntário será submetido a exames laboratoriais (sumário de urina, creatinina) e cistoscopia (exame endoscópico da bexiga), seguida de biópsia (coleta de uma minúscula amostra da bexiga).
- 4- A participação neste estudo não modifica o tratamento quimioterápico padrão, indicado para a doença e em plena utilização.
- 5- A realização de exames laboratoriais é desprovida de complicações ou efeitos indesejáveis.
- 6- A cistoscopia, seguida de biópsia (02 minúsculos fragmentos), em mãos experientes e com a adoção de cuidados técnicos necessários, é um procedimento de baixo índice de complicação, entretanto pode causar, além de eventuais desconfortos durante o exame, maior possibilidade de infecção urinária; raramente ocorre sangramento urinário e se isso acontece, é de pequena monta e rapidamente cessa.

- 7- Todas as informações necessárias para poder decidir, conscientemente, sobre a participação no referido ensaio clínico, foram fornecidas.
- 8- A liberdade de desistir ou interromper a participação, no projeto, no momento em que desejar, é um direito seu, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no atendimento médico que lhe é prestado nesta instituição.
- 9- Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo e as entidades promotoras se comprometem em não identificar o voluntário por ocasião da apresentação ou da publicação dos dados.
- 10- Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar o Instituto de Câncer do Ceará (ICC) e solicitar que contactem os médicos responsáveis pelo ensaio clínico, nos telefones abaixo:

Ronaldo de Albuquerque Ribeiro – Fone 99887282

Marcos Venício Alves Lima –Fone 99834760

ANEXO III

PROTOCOLOS DE QUIMIOTERAPIA

OSTEOSSARCOMA

QT PRÉVIA E QT ADJUVANTE:

Semanas 0, 6 e 12

Ifosfamida 1800 mg/m² D1-D5Doxorrubicina 25 mg/m² D1-D3

Semanas 3 e 9

Cisplatina 100-120 mg/m² D1Doxorrubicina 25 mg/m² D1-D3

Semana 15

CIRURGIA

Semana 17

Cisplatina 100-120 mg/m² D1Doxorrubicina 25 mg/m² D1-D3

Semanas 20, 26 e 32

Ifosfamida 1800 mg/m² D1-D5Etoposide 50 mg/m² D1-D3

Semanas 23, 29 e 35

Cisplatina 100-120 mg/m² D1Etoposide 50 mg/m² D1-D3

Semana 38: REAVALIAÇÃO

SARCOMA DE PARTES MOLES

QT ADJUVANTE E PALIATIVA:

Ifosfamida	2 g/m ²	D1-D3	28/28d
Doxorrubicina	25 g/m ²	D1-D3	

OU

Ifosfamida	2 g/m ²	D1-D3	28/28d
Etoposide	120 mg/m ²	D1-D3	

TUMORES GERMINATIVOA TESTICULARES

SEGUNDA LINHA – RESGATE:

VP-16	75 mg/m ²	D1-D5
Ifosfamida	1800 mg/m ²	D1-D5
CDDP	20 mg/m ²	D1-D5

ANEXO IV

Para efeito didático, as observações microscópicas das espécimes vesicais, coradas em HE, observadas à microscopia ótica, foram divididas em uroteliais e da lâmina própria, conforme a seguir está discriminado:

1- Uroteliais:

- a. **Dismaturação** – perda da polaridade, ausência de diferenciação da camada superficial. Gradação: 0 – ausente, 1 – presente.
- b. **Atipias** – mitoses anômalas, ou seja, na camada parabasal ou superficial: 0 – ausente, 1 – presente.
- c. **Exocitose** – Células leucocitárias interpostas no urotélio: 0 – inexistente, 1 – Um foco, 2 - Dois ou 3 focos, 3 – difuso ou mais de 3 focos.
- d. **Edema** - Gradação: 0 – ausente, 1 – mínimo (separação celular), 2 – intenso (rotura da continuidade do urotélio com formação de vesículas) .
- e. **Erosão** – Perda de camadas de revestimento urotelial: 0 – inexistente, 1 – perda somente da camada superficial, 2 – perdas das camadas superficial e parabasal com basal íntegra. 3 – Ulceração com exposição da lâmina própria.
- f. **Regeneração** – Mitoses típicas e aumento da camada basal: 0 – inexistente, 1 – normal, 2 – exagerada ou hiperplásica, 3 – são encontradas metaplasia intestinal ou escamosa.

2- Lâmina própria:

- a. **Edema**: 0 – ausente, 1 – mínimo, 2 – intenso.
- b. **Exocitose (exsudato)**: 0 – inexistente, 1 – um foco, 2 – dois ou 3 focos, 3 – difuso ou mais de 3 focos.
- c. **Hemorragia**: 0 – inexistente, 1 – um foco, 2 – dois ou 3 focos, 3 – quatro ou mais focos.
- d. **Hialinização ou esclerose**: 0 – inexistente, 1 – somente hialização, 2 – somente esclerose , 3 – hialinização e esclerose.
- e. **Congestão** – aumento da vascularização, representada por presença de muitos capilares ou vasos ectasiados: 0 – ausente, 1 – mínima, 2 – máxima.
- f. **Celularidade** – O tipo de leucócitos presentes nas áreas de exocitose: granulócitos ou agranulócitos

ANEXO V

Dados demográficos e clínicos dos pacientes estudados

Pacientes	Idade	Sexo	Condição Patológica	Esquema quimioterápico
1	32	F	Fibrossarcoma	Ifosfamida + VP-16
2	18	M	Osteossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
3	32	F	Fibrossarcoma	Ifosfamida + VP-16
4	22	F	PNET	Ifosfamida + VP-16
5	46	M	Sarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
6	50	F	Fibrossarcoma	Ifosfamida + VP-16
7	54	F	Neoplasia pulmonar	Ifosfamida + Doxorubicina
8	45	M	Lipossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
9	20	F	Sarcoma epitelióide	Ifosfamida + Doxorubicina
10	36	M	Tumor germinativo testicular	Ifosfamida + VP-16
11	63	F	PNET	Ifosfamida + VP-16
12	21	M	Leiomiossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
13	22	M	Sinoviossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
14	20	F	Fibrohistiocitoma	Ifosfamida + VP-16
15	39	M	Sinoviossarcoma	Ifosfamida + VP-16
16	68	M	Leiomiossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
17	21	F	Sarcoma de Ewing	Ifosfamida + VP-16
18	48	F	Lipossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
19	40	F	Leiomiossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
20	27	F	Sarcoma de pequenas células	Ifosfamida + Doxorubicina
21	47	F	Leiomiossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
22	28	M	Sinoviossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
23	24	F	Nefroblastoma	Ifosfamida + VP-16
24	24	M	Lipossarcoma	Ifosfamida + VP-16
25	30	M	PNET	Ifosfamida + VP-16
26	18	M	Osteossarcoma	Ifosfamida + VP-16
27	24	M	Osteossarcoma	Ifosfamida + VP-16
28	22	F	PNET	Ifosfamida + VP-16
29	38	M	Tumor germinativo testicular	Ifosfamida + VP-16
30	20	F	Fibrohistiocitoma	Ifosfamida + Doxorubicina
31	39	M	Sinoviossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
32	68	M	Leiomiossarcoma	Ifosfamida + VP-16
33	25	F	PNET	Ifosfamida + VP-16
34	22	M	Osteossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
35	22	M	Sinoviossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
36	26	F	Osteossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
37	32	M	Osteossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
38	56	M	Fibrohistiocitoma	Ifosfamida + VP-16
39	29	F	Fibrossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
40	24	M	Tumor germinativo testicular	Ifosfamida + VP-16
41	22	M	Osteossarcoma	Ifosfamida + Doxorubicina
42	62	F	Schwanoma	Ifosfamida + VP-16