

3673920
R 1382063
02/04/01
R\$ 12,00

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

UFC	BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA
Nº. R 1382063	
02 / 04 / 2001	

OK

Paola Frassinetti Tôrres Ferreira da Costa

**ESTUDO COMPARATIVO DE ANTRACÍCLICOS NA INDUÇÃO DE
CARDIOTOXICIDADE EXPERIMENTAL:
PARÂMETROS ELETRO E ECOCARDIOGRÁFICOS, MARCADORES BIOQUÍMICOS,
ALTERAÇÕES MORFO-FUNCIONAIS E ABORDAGEM FARMACOLÓGICA**

ESE
616.12
C 875'c
2000

FORTALEZA

2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA

Paola Frassinetti Tôrres Ferreira da Costa

**ESTUDO COMPARATIVO DE ANTRACÍCLICOS NA INDUÇÃO DE
CARDIOTOXICIDADE EXPERIMENTAL:
PARÂMETROS ELETRO E ECOCARDIOGRÁFICOS, MARCADORES BIOQUÍMICOS,
ALTERAÇÕES MORFO-FUNCIONAIS E ABORDAGEM FARMACOLÓGICA**

Tese apresentada ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará como pré-requisito para obtenção do título de Doutor em Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro

FORTALEZA

2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

C_{875e} Costa, Paola Frassinetti Tôres Ferreira
Estudo comparativo de antracíclicos na indução de cardiotoxicidade experimental: Parâmetros eletro e ecocardiográficos, marcadores bioquímicos, alterações morfo-funcionais e abordagem farmacológica / Paola Frassinetti Tôres Ferreira da Costa. – Fortaleza, 200
237f. : il.
Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro
Tese (Doutorado). Universidade Federal do Ceará.
Departamento de Fisiologia e Farmacologia.
1. Miocardiopatia 2. Cardiotoxicidade
3. Antracíclicos 4. Parâmetros eletro e
ecoradiográficos 5. Marcadores bioquímicos
6. Modelo experimental I. Título
CDD 616.12

**ESTUDO COMPARATIVO DE ANTRACÍCLICOS NA INDUÇÃO DE
CARDIOTOXICIDADE EXPERIMENTAL:**

PARÂMETROS ELETRO E ECOCARDIOGRÁFICOS, MARCADORES BIOQUÍMICOS,
ALTERAÇÕES MORFO-FUNCIONAIS E ABORDAGEM FARMACOLÓGICA.

Paola Frassinetti Tôrres Ferreira da Costa

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro

Professor Dr. Jorge Sabbaga

Professor Dr. Fernando de Queiroz Cunha

Professor Dr. Manoel Odorico de Moraes

Professora Dra. Maria Helena da Silva Pitombeira

DEDICO,
A João Pedro,
a minha mãe, Fátima Tôres,
a meus irmãos Celme e Hélio Júnior
e a todos aqueles que acreditam na luz do Dharma.

"Um ser humano é parte de um todo chamado por nós de Universo, uma parte limitada no tempo e no espaço. Ele experiencia a si mesmo, seus pensamentos e sentimentos, como alguma coisa separada do resto, uma espécie de ilusão de ótica de sua consciência.

Essa ilusão é uma forma de prisão para nós, restringindo-nos aos nossos desejos pessoais e à afeição por umas poucas pessoas próximas. Nossa tarefa deve ser a de nos libertarmos dessa prisão alargando nossos círculos de compaixão para envolver todas as criaturas vivas e o todo da natureza em sua beleza."

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro, por ter sido um grande incentivador, um amigo solidário, um mestre diligente, com observações repletas de saber científico e por seu contagiante amor à pesquisa e aos pacientes.

Ao Prof. Carlos Alberto Flores, porque embora não estando aqui neste momento, esteve presente em minha lembrança durante todo o tempo em que este trabalho foi realizado.

A Liliana de Oliveira Moraes, pela inestimável ajuda durante os experimentos e auxílio decisivo na implantação da análise eletro e ecocardiográfica, sem os quais parte deste trabalho não teria sido possível.

A Patrícia Cabral Machado pela amizade sincera, apoio e carinho em horas difíceis.

Ao Prof. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira, pela valiosa ajuda na análise histopatológica.

Ao Prof. Manoel Odorico de Moraes, pelo apoio durante todo tempo em que fui aluna desta pós-graduação.

A Teresinha Maciel, minha professora e amiga muito querida.

A Dra. Marfisa Neves Fujita, pelo apoio, incentivo e confiança em mim depositados.

A toda equipe do Laboratório Laboclínica, especialmente a Dra. Lairte e Dra. Eridan.

A Dra. Fátima Veras, pelo inestimável auxílio e incentivo.

As Dra. Clara Bastos e Dra. Acy Quixadá, que prontamente assumiram minhas atividades no Ambulatório de Hematologia da UFC.

A Renato Mazon, meu primeiro bolsista de iniciação científica, pela diligência, competência e seriedade que dedicou a este trabalho e também a Daniel Hardy, Germana Benevides e Gisela, por suas contribuições.

A Sílvia, que foi o meu anjo da guarda durante todo tempo em que eu estive cursando o doutorado e também uma amiga sincera e leal.

Ao Franzé por seu auxílio no material fotográfico.

A todos os companheiros do Doutorado, especialmente, Ana Maria e Vilma.

A Professora Cléa Florenço pelas dicas no Exame de Qualificação.

Aos animais cujas vidas tiveram que ser ceifadas para tornar este trabalho possível.

Ao Lama Padma Samten, por me presentear com as "Três Jóias" imperecíveis, além de me fazer sentir o verdadeiro significado de "um mestre".

A Helano Rangel, por sua amorosa disponibilidade em me ofertar sua amizade.

A todos que, de forma direta ou indireta, cooperaram na realização deste trabalho.

Trabalho realizado com apoio do FUJISAN E UNIFOR.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	viii

1. Introdução

1.1 Cardiotoxicidade induzida por antracíclicos e seus análogos.....	23
1.1.1 Toxicidade clínica.....	23
1.1.2 Diagnóstico.....	25
1.1.3 Patogênese.....	30
1.1.4 Prevenção.....	34
1.1.5 Análogos.....	35
1.1.6 Cardioprotetores.....	37
1.2 Drogas testadas como agentes cardioprotetores.....	44
1.2.1 Talidomida.....	44
1.2.2 Pentoxifilina.....	50
Justificativa e objetivos do estudo.....	56
2. Material e Métodos.....	60
2.1 Animais.....	60
2.2 Aparelhos e Instrumentos Laboratoriais.....	62
2.3 Soluções, Drogas, e Corantes utilizados.....	62
2.4 Indução de cardiotoxicidade.....	63
2.4.1 Grupo controle.....	64
2.4.2 Grupo doxorubicina - 600.....	64
2.4.3 Grupo doxorubicina - 900.....	64
2.4.4 Grupo doxorubicina -1000.....	64
2.4.5 Grupo epirubicina.....	64
2.4.6 Grupo da idarubicina.....	65
2.4.7 Grupo da mitoxantrona.....	65

2.5	Análise eletrocardiográfica.....	65
2.6	Estudo ecocardiográfico.....	66
2.7	Análise Ponderal.....	66
2.8	Marcadores bioquímicos.....	67
2.8.1	Dosagem de troponina T.....	67
2.8.2	Dosagem de CK-MB.....	67
2.8.3	Dosagem de LDH.....	67
2.9	Estudo hematológico.....	68
2.10	Análise do índice cardíaco.....	68
2.11	Análise do índice hepático.....	69
2.12	Análise do índice esplênico.....	69
2.13	Análise histopatológica do coração.....	69
2.14	Grupos experimentais.....	71
2.14.1	Grupo controle.....	71
2.14.2	Grupo da doxorubicina.....	71
2.14.3	Grupos de epirubicina.....	72
2.14.4	Grupos da idarubicina.....	73
2.14.5	Grupos da mitoxantrona.....	73
2.14.6	Grupos da talidomida.....	73
2.14.7	Grupos da pentoxifilina.....	74
2.15.	Análise Estatística.....	76

3. RESULTADOS

3.1	Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com doxorubicina em doses excedentes.....	78
3.2	A talidomida e pentoxifilina previnem as alterações do QTc e voltagem do QRS induzidas por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade convencional.....	81
3.3	A talidomida e pentoxifilina previnem as alterações na fração de encurtamento do VE e no índice cardíaco induzidas por doses excedentes de doxorubicina.....	84
3.4	A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de troponina T (TnT) induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	87

3.5 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade convencional.....	90
3.6 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade convencional.....	93
3.7 A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzida por doxorubicina em doses excedentes.....	96
3.8 A talidomida e pentoxifilina previnem o aumento dos índices hepático e esplênico induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	98
3.9 Alterações tempo-dependente na mortalidade animal após tratamento com doxorubicina em doses excedentes.....	101
3.10 A talidomida e pentoxifilina modificam a mortalidade induzida por doxorubicina em animais tratados com doses excedentes.....	103
3.11 Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	105
3.12 Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por epirubicina em comparação com doxorubicina.....	109
3.13 Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por idarubicina em comparação com doxorubicina.....	111
3.14 Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por mitoxantrona em comparação com doxorubicina.....	113
3.15 Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre os parâmetros eletrocardiográficos comparando análogos antracíclicos vs doxorubicina.....	115
3.16 Parâmetros ecocardiográficos dos animais tratados com doxorubicina epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	118
3.17 A talidomida e pentoxifilina previnem as alterações na fração de encurtamento do VE (% Δ D) induzidas por doxorubicina e análogos antracíclicos.....	120
3.18 Alterações nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	122
3.19 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	126

3.20 Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	130
3.21 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	134
3.22 Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	138
3.23 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	142
3.24 A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	146
3.25 O tratamento com talidomida e pentoxifilina modifica a mortalidade animal induzida por doxorubicina.....	150
3.26 A talidomida e pentoxifilina previnem o aumento dos índices cardíaco, hepático e esplênico induzidos por doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona....	153
3.27 Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre a mielotoxicidade dos análogos antracíclicos vs doxorubicina.....	156
3.28 Caracterização das lesões histopatológicas induzidas por antracíclicos.....	159
3.29 Análise dos escores microscópicos da lesão miocárdica nos animais tratados com antracíclicos e estudo comparativo dos demais parâmetros de cardiotoxicidade.....	162
3.30 Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre os parâmetros ecocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos.....	167
3.31 Diagramas de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis séricos dos marcadores bioquímicos, comparados as alterações eletrocardiográficas (QTc e QRS), Fração de encurtamento do VE e escore das lesões miocárdicas.....	169
4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	174
5. CONCLUSÃO.....	209
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	211

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formação de espécies reativas de oxigênio e sua relação com o metabolismo da doxorubicina.....	42
Figura 2. Traçados eletrocardiográficos representativos dos animais tratados com ICRF e doxorubicina.....	43
Figura 3. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com doxorubicina em doses excedentes.....	79
Figura 4. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com talidomida ou pentoxifilina e doses excedentes de doxorubicina.....	80
Figura 5. A talidomida previne as alterações no QTc e voltagem do QRS induzidas por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicológica convencional.....	82
Figura 6. A pentoxifilina previne as alterações no QTc e voltagem do QRS induzidas por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicológica convencional.....	83
Figura 7. A talidomida previne as alterações na fração de encurtamento do VE (Painel A) e no índice cardíaco (Painel B) induzidas por doses excedentes de doxorubicina.....	85
Figura 8. O tratamento com pentoxifilina previne as alterações na fração de encurtamento do VE (Painel A) e no índice cardíaco (Painel B) induzidas por doses excedentes de doxorubicina.....	86
Figura 9. A talidomida previne a elevação dos níveis séricos de Troponina T induzidos por doxorubicina em doses excedentes a doses excedentes.....	88
Figura 10. A pentoxifilina previne a elevação dos níveis séricos de Troponina T induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	89
Figura 11. A talidomida previne a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	91
Figura 12. A pentoxifilina previne a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	92
Figura 13. A talidomida previne a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	94
Figura 14. A pentoxifilina previne a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	95

Figura 15. A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por doxorubicina em doses excedentes.....	97
Figura 16. A talidomida previne o aumento dos índices hepático e esplênico induzidos por doxorubicina em doses excedentes	99
Figura 17. A pentoxifilina previne o aumento dos índices hepático e esplênico induzidos por doxorubicina em doses excedentes.....	100
Figura 18. Alterações tempo-dependente na mortalidade animal após tratamento com doxorubicina.....	102
Figura 19. A talidomida e pentoxifilina modificam a mortalidade animal induzida por doxorubicina em doses excedentes.....	104
Figura 20. Traçados eletrocardiográficos de animais tratados com epirubicina.....	105
Figura 21. Traçados eletrocardiográficos de animais tratados com idarubicina.....	106
Figura 22. Traçado eletrocardiográfico de animais tratados com mitoxantrona.....	107
Figura 23. Alterações nos níveis séricos da troponina T induzidos por epirubicina.....	123
Figura 24. Alterações nos níveis séricos da troponina T induzidos por idarubicina.....	124
Figura 25. Alterações nos níveis séricos da troponina T induzidos por mitoxantrona.....	125
Figura 26. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de troponina T induzidos por epirubicina.....	127
Figura 27. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de troponina T induzidos por idarubicina.....	128
Figura 28. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de troponina T induzidos por mitoxantrona.....	129
Figura 29. Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina.....	131
Figura 30. Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por idarubicina.....	132
Figura 31. Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por mitoxantrona....	133
Figura 32. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina.....	135
Figura 33. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de CK-MB induzidos por idarubicina.....	136

Figura 34. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de CK-MB induzidos por mitoxantrona.....	137
Figura 35. Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina.....	139
Figura 36. Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por idarubicina.....	140
Figura 37. Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por mitoxantrona.....	141
Figura 38. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina.....	143
Figura 39. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de LDH induzidos por idarubicina.....	144
Figura 40. A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação nos níveis séricos de LDH induzidos por mitoxantrona.....	145
Figura 41. A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por epirubicina.....	147
Figura 42. A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por idarubicina.....	148
Figura 43. A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por mitoxantrona.....	149
Figura 44. O tratamento com talidomida modifica a mortalidade animal induzida por doxorubicina e análogos antracíclicos.....	151
Figura 45. O tratamento com pentoxifilina modifica a mortalidade animal induzida por doxorubicina e análogos antracíclicos.....	152
Figura 46. Microfotografia das lesões histopatológicas induzidas por antracíclicos.....	160
Figura 47. Microfotografia demonstrando infiltração miocárdica por células inflamatórias.....	161
Figura 48. Diagrama de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis de troponina T e: QTc (A); Voltagem do QRS (B) FE do VE (C) e escore das lesões histopatológicas (D).....	170
Figura 49. Diagrama de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis séricos CK-MB e: QTc (A); Voltagem do QRS (B) FE do VE (C) e escore das lesões histopatológicas (D)	171

Figura 50. Diagrama de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis séricos de LDH e: QTc (A); Voltagem do QRS (B) FE do VE (C) e escore das lesões histopatológicas (D).....172

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. O ICRF previne as alterações na fração de encurtamento do ventrículo esquerdo induzidas por doxorubicina.....	40
Tabela 2. Escores para as alterações histopatológicas.....	70
Tabela 3. Alterações no traçado eletrocardiográfico induzida por doses cardiotoxícas de epirubicina em comparação com a doxorubicina.....	110
Tabela 4. Alterações no traçado eletrocardiográfico induzida por doses cardiotoxícas de idarubicina em comparação com a doxorubicina.....	112
Tabela 5. Alterações no traçado eletrocardiográfico induzida por doses cardiotoxícas de mitoxantrona em comparação com a doxorubicina.....	114
Tabela 6. Efeito do tratamento com talidomida sobre os parâmetros eletrocardiográficos comparando análogos antracíclicos vs doxorubicina.....	116
Tabela 7. Efeito do tratamento com pentoxifilina sobre os parâmetros eletrocardiográficos comparando análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	117
Tabela 8. Alterações dos parâmetros ecocardiográficos comparando análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	119
Tabela 9. Efeito do tratamento com talidomida sobre os parâmetros ecocardiográficos comparando os análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	121
Tabela 10. Efeito do tratamento com pentoxifilina sobre os parâmetros ecocardiográficos comparando os análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	121
Tabela 11. Níveis séricos de troponina T em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	122
Tabela 12. Níveis séricos de troponina T em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona + talidomida e pentoxifilina.....	126
Tabela 13. Níveis séricos de CK-MB em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.....	130
Tabela 14. Níveis séricos de CK-MB em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona + talidomida e pentoxifilina.....	134
Tabela 15. Níveis séricos de LDH em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona	138

Tabela 16. Níveis séricos de LDH em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona + talidomida e pentoxifilina.....	142
Tabela 17. Efeito do tratamento com talidomida sobre os índices cardíaco, hepático e esplênico de animais tratados com análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	154
Tabela 18. Efeito do tratamento com pentoxifilina sobre os índices cardíaco, hepático e esplênico de animais tratados com análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	155
Tabela 19. Efeito do tratamento com talidomida sobre a mielotoxicidade dos análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	157
Tabela 20. Efeito do tratamento com pentoxifilina sobre a mielotoxicidade dos análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	158
Tabela 21. Parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotóxica convencional	163
Tabela 22. Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre os parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotóxica.....	164
Tabela 23. Efeito do tratamento com talidomida comparando os parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	165
Tabela 24. Efeito do tratamento com pentoxifilina comparando os parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	166
Tabela 25. Efeito do tratamento com talidomida comparando os parâmetros ecocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	168
Tabela 26. Efeito do tratamento com pentoxifilina comparando os parâmetros ecocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos <i>versus</i> doxorubicina.....	168

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Trifosfato de adenosina
cm ³	Centímetros cúbicos
CK-MB	Creatino quinase músculo cérebro
dL	Decilitro
DMSO	Dimetil sulfoxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
DXR	Doxorubicina
ECG	Eletrocardiograma(s)
ECO	Ecocardiograma(s)
EDTA	Ácido dietilamino tetra-acético
ENL	Eritema nodoso da lepra
EPI	Epirubicina
Fe ⁺⁺⁺	Íon ferro
FDA	Food and Drug Administration
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
g	grama(s)
G-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos
GMC-CF	Fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H.E	Hematoxilina eosina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA-B	Locus B do Antígeno de Histocompatibilidade
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
ICRF-187	Dexrasoxane
IDA	Idarubicina
IFN- γ	Interferon gama
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
i.p.	Via intra-peritoneal
KDa	Kilodalton(s)
Kg	Quilograma
LDH	Desidrogenase Láctica
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LPS	Lipopolissacarídeos bacterianos
μ L	Microlitro
mg	Miligrama

mg/m²	Miligrama por metro quadrado
MIT	Mitoxantrona
ml	Mililitro
mm³	Milímetro(s) cúbico(s)
Modo-M	Modo monodimensional
MPD	Muramil dipeptídeo
mV	Milivolts
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Forma reduzida da Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
ng	Nanograma
OH	Íon hidroxil
PGE₂	Prostaglandina E₂
PM	Peso Molecular
PTX	Pentoxifilina
QTc	Segmento QT corrigido
RNA	Ácido ribonucléico
S.C.	Via subcutânea
TAP	Tempo de atividade de protrombina
TLD	Talidomida
TnT	Troponina T
VE	Ventrículo esquerdo
%ΔD	Percentual de delta D

Título: *Estudo comparativo de antracíclicos na indução de cardiotoxicidade experimental : Parâmetros eletro e ecocardiográficos, marcadores bioquímicos, alterações morfo-funcionais e abordagem farmacológica.*

Autor: Paola Frassinetti Tôrres Ferreira da Costa.

Local: Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro.

Farmacologia de drogas antineoplásicas.

RESUMO

A cardiotoxicidade específica, que se desenvolve após doses cumulativas de antraciclina, é o principal efeito limitante para o tratamento a longo prazo com estes agentes. Vários modelos animais reproduzindo as alterações morfológicas, bioquímicas e funcionais induzidas por doxorubicina, têm sido descritos e usados para testar novos análogos. Em estudos anteriores desenvolvemos um modelo de tratamento "in vivo" para estudo da cardiotoxicidade induzida por antracíclicos em ratos em que, consistentes e significativas alterações da função miocárdica puderam ser observadas e mensuradas em intervalo de tempo relativamente curto. O objetivo do presente estudo foi validar o modelo proposto para avaliação da cardiotoxicidade induzida por doxorubicina em ratos, usando a epirubicina (EPI), idarubicina (IDA) e mitoxantrona (MIT). Além de avaliar o potencial cardioprotetor da talidomida e pentoxifilina. Os parâmetros utilizados nesta avaliação foram: estudo eletro e ecocardiográfico; dosagem sérica dos marcadores bioquímicos (Troponina T, CK-MB, LDH); curva ponderal; parâmetros hematológicos, índices cardíaco, hepático, esplênico e análise histopatológica. A análise dos resultados demonstraram que a epirubicina, idarubicina e mitoxantrona, embora sejam drogas com menor potencial cardiotoxíco, ao serem utilizadas em doses cumulativas, parecem induzir toxicidade miocárdica similar a da doxorubicina. Quando utilizamos marcadores de cardiotoxicidade aguda, como troponina T (TnT), CK-MB e LDH, não se observam diferenças significativas entre estes agentes e a doxorubicina. A talidomida e pentoxifilina, conseguem inibir a cardiotoxicidade induzida por doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona no modelo utilizado. Além disso a doxorubicina quando administrada em doses excedentes (50 e 100%) acima da dose cumulativa habitual, também têm seu potencial cardiotoxíco inibido por estes dois agentes. Nossos resultados sugerem que no modelo de cardiotoxicidade experimental utilizado, não existem diferenças significativas entre a doxorubicina e análogos antracíclicos na indução de cardiomiopatia e esta pode ser mensurada de forma não invasiva através de marcadores bioquímicos como a troponina T e CK-MB e prevenida através da utilização concomitante de talidomida e pentoxifilina, que podem vir a ser utilizados na prática clínica como agentes cardioprotetores.

Title: *Anthracycline Cardiotoxicity in the rat: Relationship between ECG, ECO, Biochemical Parameters, Morphologic Examination and Pharmacological Effects Induced by Different Analogues.*

Author: Costa, PFTF

Author Affiliation: Federal University of Ceará, Pharmacology and Physiology Department, Brazil.

Language: Portuguese

SUMMARY

A specific cardiotoxicity, which develops with critical cumulative doses of the anthracyclines, is the major limiting factor in the use of these agents in long-term treatments. Several animal models reproducing doxorubicin-induced morphological, biochemical and functional cardiac alterations have been described and used for screening of new analogs. In previous studies we developed an *in vivo* doxorubicin schedule for the study of anthracycline-induced cardiotoxicity in rats with which consistent and significant functional and morphologic myocardial alterations can be observed and measured in a relatively short time. The aim of the present study was to validate the proposed model for anthracycline-induced cardiotoxicity in the rat using the epirubicin, idarubicin and mitoxantrone. Besides evaluating the cardioprotector potential of the thalidomide and pentoxifylline. The parameters used in this evaluation have been: Electrocardiogram (ECG) and Echocardiogram (ECO) changes, biochemical markers, ponderal curve, hematologic values, cardiac, hepatic and splenic index and histological analysis. The analysis of the result had demonstrated that the epirubicin, idarubicin and mitoxantrone, when being used in cumulative doses seen to present cardiotoxicity like to doxorubicin. When we use markers of acute myocardial lesion as T troponin, CK-MB and LDH, not if they observe significant differences between these agents and doxorubicin. The pentoxifylline and thalidomide one obtain to inhibit the induced cardiotoxicity for doxorubicin, epirubicin, idarubicin and mitoxantrone in the used model. Moreover the doxorubicin when managed in exceeded doses, also it has its cardiotoxic potential inhibited by these two agents. Our recent studies suggest that in the used model of experimental cardiotoxicity few differences between the cardiotoxic potential presented by diverse anthracyclines analogs exist and this can be inhibited by pentoxifylline and thalidomide, that can be used in the clinic as cardioprotective agents.

Revisão de Literatura

INTRODUÇÃO

CARDIOTOXICIDADE INDUZIDA POR ANTRACÍCLICOS E SEUS ANÁLOGOS

A doxorubicina (DXR) é um antibiótico do grupo químico das antraciclina obtido por fermentação do *Streptomyces peucetius var. Caesius*. Foi descoberta por Arcamone e colaboradores (Arcamone, 1969) e introduzida na prática clínica como agente quimioterápico no final da década de 60 (Bonadonna, 1969). Desde então os antibióticos antracíclicos, particularmente a DXR, têm-se revelado uma das classes mais ativas de compostos antineoplásicos. Permanecem ainda como elementos essenciais no tratamento de diversos tumores sólidos (câncer de mama, sarcomas de partes moles, osteossarcoma, sarcoma de Kaposi) e neoplasias hematológicas (Linfoma de Hodgkin e não-Hodgkin), além de diversas neoplasias de infância. Outros tumores menos responsivos, porém ainda tratados como DXR, incluem: carcinomas gástricos, pancreáticos, hepáticos e de vias biliares (Hortobágyi, 1997). A cardiotoxicidade, a despeito da ocorrência de outros efeitos tóxicos mais comuns tipo náusea, vômitos, mucosite, mielossupressão e alopecia, tem, entretanto, limitado o uso clínico das antraciclina, principalmente da mais utilizada, a DXR. Tal limitação pode levar a um notório prejuízo para os pacientes, desde que determina uma redução da dose ideal do quimioterápico, culminando numa possível diminuição nas taxas de sobrevida e remissão completa da doença de base.

Toxicidade clínica

Essa importante toxicidade miocárdica associada à terapia com antraciclina não havia sido observada nos estudos pré-clínicos iniciais. Entretanto, durante os primeiros ensaios clínicos com doxorubicina, alterações eletrocardiográficas, incluindo taquicardia, depressão do segmento ST e alterações de onda T já foram detectadas (Bonadonna, 1970). Porém, somente após a análise retrospectiva de 399 pacientes feita por Lefrak e colaboradores, é que a ocorrência de cardiomiopatia e insuficiência cardíaca congestiva (ICC) associada a doses cumulativas de DXR foi definitivamente estabelecida. Esse estudo também deixou

claro que a ICC era um fenômeno dose-dependente: incidência maior que 5% foi encontrada quando utilizaram doses de 501 – 550 mg/m², e acima de 30% quando doses a partir de 601 mg/m² foram empregadas (Lefrak, 1973). Em outro estudo, Von Hoff e colaboradores mostraram uma incidência de 7 a 10% para doses de 450 a 500 mg/m² de DXR, e resultados semelhantes para daunorubicina (Von Hoff, 1979). A dose cumulativa de 500 mg/m² foi então considerada como limite máximo no sentido de se minimizar os riscos de cardiomiopatia e ICC.

Estudos subseqüentes mostraram que a cardiomiopatia poderia ocorrer com doses menores de DXR, em pacientes com fatores de risco tais como idade, cardiopatia prévia, hipertensão, radioterapia mediastinal anterior ou concomitante, e quando havia associação com outros quimioterápicos, os quais eram capazes de potencializar esse para-efeito (Minow, 1977). Em relação a esse último aspecto, tem sido descrita maior incidência de toxicidade cardíaca quando a DXR foi associada a ciclofosfamida e, mais recentemente, ao paclitaxel (Gianni, 1995). Recentemente o Trastuzumab (Herceptin®, anticorpo monoclonal antiHER2) foi aprovado para o tratamento de câncer de mama. Entretanto 28% de pacientes recebendo ambas as drogas, trastuzumab e antraciclina desenvolveram ICC. O que significa um aumento de 7 para 28%. Embora a expressão aumentada de HER2 tenha sido associada ao desenvolvimento de câncer, os receptores HER2 parecem ter efeito cardioprotetor, porque eles são mediadores de importantes vias sinalizadoras cardíacas (Feldman et al., 2000).

A doxorubicina pode causar cardiotoxicidade aguda ou, mais freqüentemente, crônica. Agudamente – durante a infusão ou dias após – a toxicidade cardíaca pode manifestar-se por arritmias, alterações eletrocardiográficas, pericardite, miocardite e, ocasionalmente, infarto do miocárdio e morte súbita, efeitos estes, resultantes principalmente de dano agudo aos miócitos, decorrente da liberação de substâncias vasoativas, tais como catecolaminas e histaminas (Steinherz, 1991).

No entanto, o principal problema clínico está no desenvolvimento de uma cardiomiopatia crônica progressiva. O quadro clínico observado nesses pacientes é similar aquele visto em outras miopatias cardíacas difusas: taquicardia, seguida por fadiga, dispnéia, edema pulmonar, periférico e sinais de baixo débito cardíaco. A

gravidade do quadro deve-se principalmente à irreversibilidade e refratariedade da cardiomiopatia aos tratamentos convencionais, com conseqüências fatais em pelo menos 30 a 50% dos indivíduos afetados (Von Hoff, 1979). É importante enfatizar que o dano cardíaco das antraciclina é primariamente aos miócitos, não afetando diretamente as coronárias, sistema vascular ou de condução. Secundariamente, entretanto, uma má função dessas estruturas pode ocorrer como resultado da cardiomiopatia dilatada progressiva.

Além dessas formas, tem sido descrita uma apresentação tardia – 4 a 20 anos após o uso de antraciclina – particularmente em crianças. Estudos prospectivos com subgrupos de crianças que se submeteram à terapia com antracíclicos, têm revelado que a incidência de anormalidades cardíacas aumenta com o tempo e pode chegar a 65%, sendo a magnitude desse problema talvez maior com o aumento da duração do seguimento (Steinherz, 1991). Nesse contexto, recentemente o POG (The Pediatric Oncology Group), avaliando retrospectivamente 6493 crianças tratadas previamente com antraciclina, com o objetivo de estudar a incidência de danos cardíacos precoces (um ano após o término da quimioterapia) reportou cardiotoxicidade em 106 pacientes (1,6%). Os fatores associados com maior risco relativo de ICC incluíram dose cumulativa > 500 mg/m², dose individual máxima > 50 mg/m², sexo feminino, raça negra, presença de trissomia 21 e exposição a amsacrina, um derivado da acridina utilizado principalmente em leucemias não-linfoblásticas (Kirscher, 1997).

Diagnóstico

O diagnóstico preciso das alterações, assim como a monitorização do paciente antes, ao longo e após o tratamento com antraciclina são procedimentos necessários a um adequado manuseio de indivíduos submetidos à terapia com antracíclicos. Num passado recente, os médicos dispunham apenas do exame físico e da monitorização eletrocardiográfica para o estabelecimento dessa cardiomiopatia, o que tornava difícil o diagnóstico diferencial, já que os sinais e sintomas tipo dispnéia, estertores pulmonares, ritmo de galope, taquicardia, turgência jugular, edema de membros inferiores e hepatomegalia, são comuns a outras causas de ICC. É referido que o exame físico pode chegar a negligenciar cerca de 50% das alterações cardíacas precoces e reversíveis da ICC induzida por doxorubicina

(Dresdale, 1983; Ganz, 1996). As alterações inespecíficas do ECG associadas a esse tipo de cardiomiopatia incluem arritmias reversíveis no início e mais tardiamente, achatamento de onda T, prolongamento do intervalo QT e diminuição da voltagem da onda R (Praga, 1979; Singal, 1998).

A ecocardiografia bidimensional, técnica não-invasiva e bastante acessível, tem sido comumente empregada na avaliação seqüencial da função cardíaca: nesse procedimento utilizam-se como parâmetros a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), a fração de encurtamento e as alterações da espessura da parede ventricular. A FEVE também pode ser mensurada de forma mais acurada e reproduzível pela angiocardiografia por radioisótopos, método este considerado o procedimento não-invasivo mais sensível na identificação de disfunções contráteis cardíacas subclínicas, conseqüentes ao uso das antraciclina (Mason, 1978; Ganz, 1996). A acurácia dos métodos de obtenção da FEVE eleva-se quando o procedimento é combinado ao esforço físico (Ganz, 1996; Mckillop, 1983). O grupo de Yale estabeleceu algumas recomendações para o seguimento da FEVE em pacientes submetidos à terapia com antracíclicos, dentre as quais estão a suspensão da doxorubicina quando a FEVE diminuir mais de 10% do seu valor inicial obtido antes do tratamento, ou quando a FEVE estiver menor que 30% (Duckart, 1996). Baseado nesse protocolo reduziu-se em 4 vezes a incidência clínica de ICC (Schwartz, 1987). Deve-se ressaltar que uma FEVE inicial menor que 45% identifica os pacientes com alto risco de cardiotoxicidade (Speyer, 1998).

Outro teste não-invasivo que também pode ser utilizado para se detectar alterações precoces induzidas pela doxorubicina é a angiocardiografia com anticorpos monoclonais antimiosina marcados com Índio 111. Os anticorpos ligam-se à miosina cardíaca exposta quando os miócitos estão lesados. Este método é bastante sensível na detecção de necroses de células miocárdicas associadas a doenças tais como cardiomiopatia dilatada, infarto do miocárdio e miocardite, além de ser capaz de mensurar a FEVE e identificar anormalidades na motilidade da parede cardíaca (Bhattacharya, 1991). Apesar de sua baixa especificidade, já que detecta células necróticas independentemente da causa de necrose, este método mostrou evidência de lesão miocárdica em 85% dos pacientes sem fatores de risco para cardiotoxicidade que receberam 500 mg/m² de doxorubicina (Jain, 1990).

Um radioisótopo análogo da norepinefrina, metaiodobenzilguanidina (MIBG), tem sido utilizado para se avaliar a integridade dos neurônios adrenérgicos cardíacos, a qual é afetada pelos antracíclicos. Através desse método foi demonstrado que na cardiomiopatia induzida por DXR ocorre uma deservação adrenérgica antes que uma diminuição da fração de ejeção seja detectável por ecocardiograma ou angiografia com radioisótopos (Wakasugi, 1995; Takano, 1995). Dessa forma, esta técnica pode identificar disfunções cardíacas precoces associadas a cardiotoxicidade induzida por DXR.

Recentes estudos têm investigado a correlação dos níveis séricos de troponina T e troponina I com a cardiotoxicidade precoce devido aos antracíclicos. Alguns ensaios clínicos demonstraram haver elevação nos níveis séricos de troponina T em crianças submetidas a tratamento com DXR, sendo essa elevação correlacionada à dilatação do ventrículo esquerdo, ao espessamento da parede cardíaca e às alterações histológicas usuais encontradas na cardiomiopatia induzida por DXR (Ottlinger, 1995; Lipschultz, 1997; Herman, 1998).

O teste diagnóstico definitivo e de maior sensibilidade e especificidade para a mensuração da cardiotoxicidade associada as antraciclina é a biópsia endomiocárdica seriada e sua avaliação histopatológica. Os achados patológicos relacionados a cardiomiopatia crônica foram bem caracterizados por vários estudos (Billingham, 1978; Alexander, 1996). Identifica-se uma série progressiva de alterações morfológicas comuns a todos os antibióticos antracíclicos, incluindo degeneração miofibrilar, dilatação mitocondrial e vacuolização do citoplasma. Billingham e colaboradores descreveram um reprodutível sistema de escores microscópicos para essas lesões, utilizado para classificar o dano tecidual numa escala de 1 a 3 (Billingham, 1978). Escores maiores ou iguais a 2 correlacionam-se melhor com o desenvolvimento de ICC clinicamente manifesta (Ferrans, 1992); já a biópsia com escore acima de 2,5 deve ser considerada como um indicativo para suspensão da terapia com DXR (Bristow, 1982). No entanto, o caráter invasivo e a pouca disponibilidade deste procedimento tornam-no infreqüente na prática clínica.

Na última década a utilização de marcadores bioquímicos para monitorização da injúria miocárdica tem mostrado que muitos desses marcadores são úteis na detecção de cardiotoxicidade aguda e crônica. Não existe nenhum exame que possa discriminar entre lesão ao músculo cardíaco e esquelético em animais de

laboratório. A utilização de eletroforese para isoenzimas da creatino quinase (CK) e desidrogenase láctica (LDH) foram usadas eficientemente na detecção de infarto agudo do miocárdio em humanos. Entretanto, seu uso em animais de laboratório para detecção de lesão cardíaca é complicado por vários fatores.

Estas provas são reconhecidas como tendo restrita especificidade e sensibilidade para uso médico na descoberta de injúria cardíaca (Keffer et al., 1996). Os testes baseados na determinação da atividade eletroforética das isoenzimas de CK e LDH podem apresentar resultados falso-negativos em algumas espécies, como por exemplo porcos, coelhos e cavalos, mais freqüentemente que quando usados em humanos (Burger et al., 1964; Thóren-Tilling et al., 1983). Também, complicação de lesão cardíaca por lesão do músculo de esquelético é mais provável em animais do que em pessoas.

Uma lesão muscular leve ou moderada freqüentemente ocorre após esforço, trauma, ou tensão durante a manipulação do animal, especialmente em animais selvagens ou de laboratório. Isto pode causar liberação aumentada das isoenzimas CK e LDH pelo músculo esquelético que dificulta a detecção da atividade aumentada das isoenzimas cardíacas (CK-MB, LDH-1 e LDH-2) (Cardinet, 1989). Além disso, em algumas espécies a alta concentração de albumina sérica (ex. ratos), pode mascarar a atividade da CK-MB sérica pela co-migração de albumina durante a eletroforese (Alleyassine, 1978). Finalmente, semelhante aos seres humanos, a liberação relativamente lenta de LDH (1 a 2 dias) e clearance rápido de CK (2 a 3 dias) no sangue, restringe o intervalo depois da lesão durante os quais esses biomarcadores podem ser usados (Boyd, 1988).

Podem acontecer resultados falso-positivos para injúria cardíaca, baseados na determinação eletroforética da atividade sérica de isoenzimas de CK ou LDH, porque estas enzimas não são encontradas apenas no coração.

Em contraste com os seres humanos a atividade hepática de LDH-1 e LDH-2 é mais alta em cavalos, bois e porcos. Portanto, lesão hepatocelular nestas espécies, simula uma falsa positividade do exame de LDH (Aplle, 1989). A lise de plaquetas ou eritrócitos libera LDH e CK, que pode ser do tipo cardíaco em algumas dessas espécies (Cardinet, 1989; Boyd, 1988).

Recentemente, foram desenvolvidos exames com alta especificidade e sensibilidade para a detecção de infarto do miocárdio em seres humanos (Bayana et

al., 1995). A maioria destes exames é baseada na detecção por técnicas imunológicas de uma proteína, tal como troponina T cardíaca. Cujas expressão gênica está restringida ao músculo estriado, principalmente o músculo cardíaco. Comparada com LDH e CK, esta proteína tem liberação mais rápida e é mais persistente no sangue (Bayana et al., 1995; Keffer, 1996). A troponina T é uma proteína miofibrilar importante na regulação da contração do músculo estriado e sua estrutura foi altamente conservada através do desenvolvimento filogenético (Malouf et al. 1992).

O teste para detecção dos níveis séricos de Troponina T é usado para detecção da atividade desta proteína em humanos e várias espécies animais, após lesões tóxicas (Bleuel et al., 1997), imunológicas (Remppis et al., 1995) e isquêmicas (Walpoth et al., 1995) ao miocárdio.

A troponina é um complexo formado por três subunidades protéicas: C, I e T. Estas proteínas estão localizadas nas miofibrilas do tecido muscular, sendo que a seqüência terminal dos seus aminoácidos difere entre o músculo esquelético e cardíaco, permitindo que sejam distinguidos imunologicamente através de anticorpos monoclonais dirigidos para esta seqüência de aminoácidos (Keffer, 1996).

Devido à seqüência única de aminoácidos e as altas concentrações intracelulares, os imunoensaios para detecção das troponinas cardíacas T e I, tornaram-se os marcadores enzimáticos mais sensíveis e específicos de lesão miocárdica. Além de sua alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico do infarto agudo do miocárdio (IAM), esses marcadores mostraram-se úteis na estratificação de risco em pacientes com angina estável com relação a eventos cardíacos futuros.

No IAM, a troponina T começa a ser detectada na circulação a partir da 3^a hora e atinge o seu pico entre 10 e 24h, permanecendo detectável no sangue até o 12^o dia, com uma especificidade de 74% (Wong, 1996).

A troponina I começa a ser detectada no sangue dentro de 4 horas após o IAM, apresentando pico entre 14 e 18 horas e permanecendo detectada na circulação por 5 a 7 dias. A sensibilidade da troponina I é de 96,6% com uma especificidade de 94,9% (Wong, 1996).

O primeiro estudo correlacionando os níveis de troponina T com a gravidade da Insuficiência Cardíaca (IC) e os resultados clínicos, foi publicado por Setsuta e

col. em 1999. Foram estudados 58 pacientes hospitalizados com ICC e 169 indivíduos normais (controles). Os níveis séricos de troponina T (limite de detecção de 0,02ng/ml) foram relacionados com a severidade da ICC e os resultados clínicos (morte ou readmissão hospitalar por nova descompensação cardíaca) em 12 meses de seguimento. A troponina T foi detectada ($\geq 0,02$ ng/ml) em 30 pacientes (51,7%) do grupo ICC e em 7 indivíduos (4,1%) do grupo controle ($p < 0,0001$). Os autores também observaram que os pacientes do grupo ICC com níveis detectáveis de troponina T apresentavam um maior índice cardio-torácico (69 ± 8 vs. 59 ± 7 %; $p < 0,0001$) e maiores níveis plasmáticos de peptídeo natriurético atrial (243 ± 201 ng/ml vs. 82 ± 82 ng/ml; $p = 0,0007$). Não houve diferença significativa nos níveis de CK e CK-MB entre os pacientes com e sem troponina T detectada. A taxa de eventos cardíacos em 12 meses foi de 65,8% para os pacientes com troponina T $\geq 0,05$ ng/ml e 14,8% para os pacientes com troponina T $< 0,05$ ng/ml ($p = 0,004$).

A relação entre os níveis séricos de troponina T e o grau de disfunção miocárdica foi publicado recentemente por Missov e col. (1999). Nesse estudo, 33 pacientes portadores de ICC (classe funcional: I a IV) e 47 indivíduos normais (controles), foram comparados com relação aos níveis séricos de troponina T e CK-MB massa. Os autores observaram uma diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com IC e o grupo controle, com relação aos níveis de troponina T ($0,140 \pm 0,439$ ng/ml vs. $0,0002 \pm 0,0001$ ng/ml; $p = 0,0001$) e CK-MB ($3,76 \pm 3,75$ ng/ml vs. $2,62 \pm 2,16$ ng/ml; $p = 0,0474$). A análise da função ventricular (FEVE) mostrou que os pacientes do grupo ICC com maior grau de disfunção (FEVE ≤ 45 %) apresentavam níveis séricos elevados de troponina T em comparação com os pacientes com FEVE < 45 % ($0,163 \pm 0,50$ ng/ml vs. $0,007 \pm 1,01$ ng/ml; $p = 0,04$). Os níveis de troponina T relacionavam-se com a gravidade da IC pela classe funcional da NYHA e apresentavam uma correlação negativa com a função ventricular esquerda ($R = -0,41$, $p = 0,01$). Segundo os autores, a avaliação dos níveis séricos de troponina T poderia ser uma forma simples de identificar casos suspeitos de ICC subclínica e monitorizar o efeito da terapêutica utilizada.

A utilização da troponina T como biomarcador da cardiotoxicidade crônica induzida por doxorubicina foi avaliada em um modelo utilizando ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Elevações nos níveis séricos da troponina T e diminuição da sua expressão em secções de coração, avaliados por

imunohistoquímica, foi observado nos animais tratados com doses de 7mg/kg de doxorubicina e induziu mínimas lesões histológicas (Herman et al., 1998). Concentrações mais elevadas de TnT coincidiram com reduzida expressão imunohistoquímica, em ratos recebendo 10-12mg de doxorubicina. Assim, a monitorização dos níveis sérico de TnT pode captar lesão miocárdica induzida por doxorubicina em ratos e pode ser útil para avaliação não invasiva desta toxicidade em humanos.

Patogênese

A compreensão da etiopatogenia da cardiotoxicidade das antraciclina fornece o suporte básico para as várias proposições de sua prevenção. Nesse sentido, o desenvolvimento de modelos experimentais em várias espécies de animais tornou-se ferramenta fundamental para se estudar diferentes aspectos da cardiotoxicidade e sua prevenção. A sensibilidade cardíaca aos efeitos tóxicos dos antracíclicos tem sido comprovada experimentalmente em várias espécies animais, como rato (Mettler, 1977), camundongo (Rosenoff, 1974), cão (Kehoe, 1978) e macaco (Denine, 1975). Particularmente, o modelo em ratos é considerado bastante apropriado, pois mimetiza as alterações funcionais observadas em pacientes, além de ser facilmente reproduzível (Costa, 1996).

Inicialmente foi pensado que a ação cardiotoxica assim como a ação anti-tumoral das antraciclina pudessem envolver uma via comum. Hoje, entretanto, já se sabe que esses dois efeitos possuem mecanismos distintos (Herman, 1998; Singal, 1997).

Apesar de alguns autores considerarem que o exato mecanismo da cardiomiopatia induzida por DXR ainda não está completamente esclarecido (Singal, 1998), a maioria dos estudos associa os efeitos cardiotoxicos das antraciclina à geração de radicais livres. Nesse contexto, tem sido descrito que a DXR provoca um estresse oxidativo, evidenciado por um aumento na formação de intermediários reativos de oxigênio e na peroxidação lipídica, o qual, associado a uma diminuição de antioxidantes celulares e de grupos sulfidrílicos, parece desempenhar um papel importante, se não fundamental, na patogênese desse tipo particular de cardiomiopatia (Singal, 1995; 1987; Sinha, 1987; Rosen, 1990).

O aumento do estresse oxidativo induzido pela DXR pode ter explicação na sua própria estrutura química: o anel quinona submete-se a cíclicas reduções, formando o radical semiquinona, processo no qual há liberação de elétrons que são captados por agentes oxidantes, incluindo o oxigênio, os quais iniciam uma cadeia de reações culminando com a geração de espécies reativas de oxigênio, tais como radical superóxido e peróxido de hidrogênio (Myers, 1998) (ver figura 01).

A eliminação do peróxido de hidrogênio é um passo crítico na prevenção de danos causados por radicais livres, devido a sua capacidade de gerar o radical hidroxil, um dos mais reativos e destrutivos oxidantes conhecidos. Essa inativação do peróxido de hidrogênio pode ser realizada por duas enzimas: catalase e glutathione peroxidase.

O déficit constitutivo e peculiar do músculo cardíaco em catalase torna o sistema glutathione peroxidase a única via de detoxificação de peróxido de hidrogênio nesse órgão. A administração de DXR resulta numa rápida destruição de glutathione peroxidase, explicando a particular susceptibilidade do miócito aos danos por radicais livres (Doroshov, 1979; 1980).

Alternativamente, a DXR pode, por ser um potente quelante do ferro (Fe^{2+}), produzir radicais livres por um mecanismo não enzimático, o qual envolve a formação inicial de um conjugado DXR-Fe^{+3} , capaz de catalisar as reações supracitadas, resultando num importante incremento na geração de radicais livres (Dorr, 1996) (ver figura 1).

Os radicais livres podem causar danos em vários sítios intracelulares, entre eles o envoltório nuclear, a membrana celular, a mitocôndria, o DNA e o retículo sarcoplasmático (Gianni, 1992; Doroshov, 1983). A interação dos radicais livres com o oxigênio provoca peroxidação lipídica nas membranas de diversas organelas. Dessa interação entre radicais livres e lipídios, resultam espécies reativas que subsequente reduzem outros ácidos graxos. Nesse momento, se estabelece uma cadeia de reações autocatalíticas, resultando num extenso dano a membranas e organelas. Além disso, é sabido que a DXR liga-se a cardiolipina presente na membrana mitocondrial, resultando em dois efeitos danosos: comprometimento da transferência de elétrons na cadeia respiratória e da ativação pela cardiolipina do complexo NADH: citocromo C, etapa importante na síntese de ATP, o que por si só, é um evento comprometedor da contratilidade miocárdica (Goormaghtigh, 1990; Fu,

1990; Kapelko, 1989). O dano ao retículo sarcoplasmático causa distúrbios no transporte de cálcio, evento crítico na regulação dos potenciais de ação cardíacos, contração e relaxamento (Fu, 1990; Pessah, 1990; Dodd, 1993). Além disso, ocorre aumento do cálcio livre, o qual pode ativar proteases no coração que causarão dano miofibrilar, ativando o processo de apoptose celular (Fazio, 1998).

As diferentes antraciclinas, experimentalmente e na prática clínica, parecem possuir mecanismos de ação cardiotoxica semelhantes aos descritos acima para a DXR. Entretanto, tais mecanismos não explicam totalmente os efeitos cardíacos dos compostos antracênicos relacionados tipo a mitoxantrona. De fato, tem sido mostrado que agentes inibidores específicos dos danos cardíacos das antraciclinas não foram capazes de inibir aqueles causados pela mitoxantrona, sugerindo que outros mecanismos de cardiotoxicidade parecem existir (Alderton, 1992).

Recentes estudos envolvendo a participação do fator de necrose tumoral (TNF- α) na ICC têm sugerido que a produção dessa citocina por miócitos submetidos a situações de injúria isquêmica, infecciosa ou tóxica desempenha um papel importante no processo de remodelamento ventricular (Ferrari, 1995; Mann, 1995; Van Deuren, 1992). Além disso, TNF- α e outras citocinas pró-inflamatórias parecem contribuir na patogênese da ICC pela sua capacidade em recrutar células inflamatórias para um coração já lesado, ou via estimulação de fatores modificadores da função vascular e contrátil (Stevenson, 1989). Vários estudos experimentais, utilizando animais e miócitos isolados, evidenciaram uma redução da contratilidade miocárdica após tratamento com TNF- α (Matsumori, 1994). Além disso, há evidências de que pacientes com ICC apresentaram níveis circulantes elevados dessa citocina (Levine, 1990; McMurray, 1991).

Tentando entender o papel de TNF- α e de outras citocinas na cardiomiopatia experimental induzida por DXR em ratos, demonstramos recentemente que um inibidor seletivo (talidomida) e outro não-seletivo (pentoxifilina) da síntese de TNF- α preveniram, de forma dose-dependente, o desenvolvimento de danos cardíacos induzidos pela DXR, sem modificar seu efeito anti-tumoral. Esta demonstração, evidenciada por eletrocardiograma, ecocardiograma, análise do peso cardíaco (índice cardíaco) e histopatologia (escores de Billingham), sugere a participação de TNF- α e de outras citocinas na fisiopatologia desse processo, já que a pentoxifilina

também inibe a síntese de outras citocinas, além de TNF- α , como IL-1, IL-6 e GM-CSF (Costa, 1996; Ribeiro, 1998).

Prevenção

A estratégia mais efetiva para se reduzir à toxicidade cardíaca é descontinuar a terapia ao se atingir uma dose cumulativa pré-determinada de 450 mg/m² de DXR, ou interromper a terapia com base no surgimento de alterações cardíacas sugestivas de toxicidade, descrita anteriormente. Limitar ou restringir a terapia em pacientes com fatores de risco cardíacos (idade > 70a, uso prévio de antraciclinas, doenças cardíacas, hipertensão, diabetes e radioterapia mediastinal anterior) tem sido também um procedimento defendido. No entanto, essas alternativas privam os pacientes da expressiva atividade anti-tumoral das antraciclinas (Von Hoff, 1979). Outras estratégias incluem uso de análogos da DXR, uso de DXR encapsuladas em lipossomos, administração concomitante de cardioprotetores.

Análogos

Vários análogos das antraciclinas têm sido investigados com o objetivo de se reduzir à toxicidade cardíaca dessas drogas, preservando a atividade anti-tumoral.

Epirubicina, em modelos experimentais, mostrou-se menos cardiotoxica que a DXR com semelhante atividade anti-tumoral (Dardir, 1989; Young, 1986). No entanto, clinicamente, esta toxicidade parece ser dependente da dose cumulativa de epirubicina e representa o maior fator limitante à utilização da droga (Ryberg et al., 1998). Caso ocorra, a cardiotoxicidade crônica normalmente se desenvolve tardiamente no curso da terapia com epirubicina ou dentro de dois a três meses depois da conclusão do tratamento, mas eventos tardios (vários meses a anos depois do término do tratamento) foram informados (Cottin et al., 1998). Num estudo retrospectivo, incluindo 9144 pacientes, principalmente com tumores sólidos em estágios avançados, a probabilidade de desenvolver ICC aumentou com a elevação de doses cumulativas de epirubicina. O risco calculado de pacientes tratados com epirubicina de desenvolver ICC clinicamente evidente numa dose cumulativa de 550 mg/m² era 0.9%, 1.6% em 700 mg/m², e 3.3% em 900 mg/m². O risco de desenvolver ICC na ausência de outros fatores de risco cardiovasculares aumentou

abruptamente depois de uma dose cumulativa de 900 mg/m² (Seymour et al., 1999).

Em outro estudo retrospectivo com 469 pacientes com câncer metastático ou primário, o risco informado de ICC foram comparáveis aos observados no estudo maior de mais de 9000 pacientes (Pagani et al., 1999).

Dado o risco de cardiomiopatia, uma dose cumulativa de 900mg/m² de epirubicina deverá ser excedida só com cautela extrema. Os fatores de risco como: doença cardiovascular ativa ou incipiente, radioterapia anterior ou concomitante à área do mediastino e/ou pericárdio, terapia prévia com outro antracíclico ou antracenediona, uso de concomitante de outras drogas com a capacidade de suprimir a contratilidade cardíaca, podem aumentar o risco de toxicidade cardíaca. Embora não formalmente testado, é provável que a toxicidade da epirubicina e outras antraciclina e antracenedionas sejam aditivos (Andersson et al., 1999).

A cardiotoxicidade aguda e crônica, acompanhada de Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC) sinalizada por mudanças na fração de ejeção do VE (FEVE) ocorre com a mitoxantrona, semelhante aos outros antracíclicos. Também uso anterior de antracíclicos, radioterapia mediastinal e doença cardiovascular pré-existente, aumentam este risco (Crossley et al., 1984; Posner et al., 1985). Estudos utilizando dose única intermitente em outros tipos de tumor mostraram que pacientes que receberam dose cumulativa de até 140 mg/m² tiveram uma probabilidade cumulativa de 2.6% de ICC. O índice cumulativo total da probabilidade de diminuições moderadas ou sérias na FEVE nesta dose era de 13% em estudos comparativos (Paxton et al., 1986). Ocasionalmente pode ocorrer Insuficiência Cardíaca Aguda em pacientes tratado com mitoxantrona para Leucemia Mielóide Aguda (LMA). Estudos de primeira-linha comparando mitoxantrona + citarabina vs daunorubicina + citarabina em pacientes adultos portadores de LMA não tratada, esteve associada falência cardíaca em 6.5% dos pacientes em cada braço (Arlin et al., 1990). Um relacionamento causal entre terapêutica com a droga e efeitos de cardíacos é difícil de estabelecer nestes pacientes desde que a função miocárdica freqüentemente está deprimida pela anemia, febre e infecção e hemorragia que freqüentemente acompanham a doença subjacente.

Esorubicina, da mesma forma, foi menos cardiotoxica que a DXR em ensaios pré-clínicos. Já em ensaios clínicos, a toxicidade cardíaca foi observada com doses cumulativas de 220 mg/m^2 (Casazza, 1979; Carlson, 1986). A relativa cardiotoxicidade da Idarubicina necessita ser mais bem avaliada em ensaios clínicos prospectivos e randomizados (Penco, 1983). Enfim, quando avaliados em bases equimolares e/ou equimielotóxicas, nenhum análogo da DXR com semelhante ou maior índice terapêutico e menor cardiotoxicidade foi seguramente estabelecido (Weiss, 1992).

Formas de administração e Lipossomos

Baseados no princípio de que a cardiotoxicidade crônica é associada primariamente ao pico de concentração plasmática da droga; estudos demonstraram que infusões contínuas prolongadas (6-96h), ao contrário de infusões rápidas ou em "bolus", reduziram a incidência desse efeito colateral (Torti, 1983). Protocolos que fracionaram a dose mensal da DXR em doses menores semanais também diminuíram a cardiotoxicidade, permitindo, inclusive, a administração de doses cumulativas maiores a esses pacientes (Torti, 1983; Weiss, 1977). No entanto, essa abordagem aumenta o tempo de permanência hospitalar, requer bombas de infusão, catéteres de acesso venoso central e, conseqüentemente, aumenta os custos do tratamento. Além disso, não está bem estabelecida a possível interferência dessa forma de administração lenta na eficácia anti-tumoral da DXR. O uso de DXR encapsulada em lipossomos, ao permitir um direcionamento mais seletivo da droga a determinados sítios, tem sido testado objetivando limitar sua toxicidade sistêmica, incluindo a cardíaca. Nesse sentido, uma menor incidência de cardiotoxicidade foi relatada, utilizando-se doxorubicina lipossomal (TLCD-99) em mulheres com câncer de mama metastático (Fonseca, 1995).

Cardioprotetores

Devido aos distintos mecanismos fisiopatológicos da atividade anti-tumoral e da cardiotoxicidade das antraciclina, tem surgido à possibilidade de prevenção ou inibição deste último através de ferramentas farmacológicas, capazes de modular seletivamente as vias mediadoras dos danos cardíacos. A comprovação da efetividade dessa abordagem tem sido viabilizada através da utilização de agentes

que previnem a geração de radicais livres ou neutralizam essas espécies reativas (*scavengers*), interagindo diretamente nos sítios da lesão miocárdica.

Numerosas substâncias com reconhecida atividade anti-oxidativa, tais como N-acetilcisteína, cisteamina, vitamina E (α -tocoferol), coenzimas Q10 e flavonóides, têm sido testadas como cardioprotetoras. Embora alguns tenham atenuado a cardiotoxicidade em modelos experimentais, nenhum desses compostos mostrou-se eficaz em prevenir os danos cardíacos em pacientes tratados com DXR (Dorr, 1996; Sadzuka et. Al, 1997). Por outro lado, o isômero-d do quelante de ferro dexarazoxane (ICRF-187) é comprovadamente efetivo em reduzir a cardiomiopatia induzida por DXR, sendo na atualidade o único agente aprovado pelo FDA (*US Food and Drug Administration*) para tal fim (Speyer, 1998). Dados obtidos em nosso laboratório, em modelo de cardiomiopatia crônica induzida por DXR em ratos, comprovam a eficácia do ICRF-187 na total prevenção das alterações eletro e ecocardiográficas, o que se encontra ilustrado na **Figura 2 e na Tabela 1**.

A solubilidade do ICRF-187 na membrana celular permite que este alcance o citoplasma, seja hidrolizado numa forma de anel aberto (ICRF-198), o que lhe confere um forte poder quelante do ferro, sendo esta propriedade a responsável pela atividade cardioprotetora desta substância (Rubio, 1995; Alderton, 1992). O dexarazoxane remove o ferro presente no complexo DXR-Fe, catalisador da geração de radicais livres, prevenindo as injúrias celulares causadas por essas espécies reativas (Gianni, 1992; Doroshow, 1988).

O efeito cardioprotetor do ICRF-187, em doses dez a vinte vezes superiores a DXR, tem sido demonstrado em diversos ensaios clínicos envolvendo pacientes portadores de câncer de mama, neoplasia pulmonar de pequenas células (Doroshow, 1988) e sarcoma de partes moles (Speyer, 1995). Além de prevenir a cardiotoxicidade, o ICRF-187 permitiu a utilização de doses cumulativas de DXR superiores a 1000 mg/m^2 , sem o surgimento de toxicidade cardíaca (Lopez, 1998). No entanto, a interferência desta substância na atividade anti-tumoral da DXR permanece controversa. Embora a grande maioria das evidências aponte para a não interferência na atividade anti-tumoral, recentemente Swain e colaboradores demonstraram haver comprometimento da eficácia anti-tumoral (Speyer, 1995) com diminuição do intervalo livre de recidiva, embora sem alterar a sobrevida (Swain, 1997). Além disso, alguns pacientes tratados com DXR e ICRF-187 em proporções

elevadas (1:20) apresentaram mielossupressão fatal. A partir desses dados, estudos subseqüentes foram conduzidos utilizando apenas a proporção de 1:10 (Swain, 1997).

Estudos pré-clínicos têm demonstrado que o ICRF-187 parece ser também eficaz em inibir a cardiotoxicidade induzida pela epirubicina e por outras antraciclinas, mas não aquela induzida pelo análogo antracênico, mitoxantrona (Williams, 1992; Alderton, 1992; Imondi, 1996).

A amifostina (WR-2721), um tiofosfato orgânico, tem-se revelado um ativo citoprotetor contra a toxicidade clínica de diversos agentes anti-neoplásicos, incluindo a nefro e neurotoxicidade da cisplatina, a neutropenia da ciclofosfamida, a trombocitopenia induzida pela carboplatina, além de reduzir a mucosite e a mielossupressão provocadas pela radioterapia (Green, 1991; Dorr, 1996). Alguns estudos experimentais recentes sugerem que a amifostina pode reduzir a cardiotoxicidade induzida pela DXR, sem alterar sua eficácia anti-tumoral (Ohnishi et al., 1992). Evidências baseadas em estudos com células cardíacas de ratos neonatos cultivadas na presença de DXR demonstram efeito cardioprotetor da amifostina e de seu análogo WR 1065, em concentrações cerca de dez vezes menores que os níveis plasmáticos observados em humanos (Dorr, 1996; Dobric, 1998). Tem sido sugerido que esse efeito deve-se à capacidade dessa droga atuar como um neutralizador de radicais livres (Dorr, 1994). Interessante é que estudos *in vitro* têm mostrado que a amifostina, ao contrário do ICRF-187, parece atuar como um estimulador da hematopoiese humana (Ohnishi, 1992). Entretanto, sua eficácia na cardioproteção não tem sido demonstrada ainda em um número maior de trabalhos experimentais de cardiotoxicidade crônica induzida por DXR; tampouco em ensaios clínicos prospectivos e randomizados.

Na cardiomiopatia induzida por DXR já instalada, as estratégias terapêuticas têm sido as mesmas utilizadas em cardiomiopatias difusas. Nesse sentido, tem-se utilizado inicialmente a limitação na ingestão de sódio, digoxina, diuréticos, inibidores da enzima conversora de angiotensina, como enalapril (Douay, 1994) e na refratariedade, β bloqueadores como metoprolol (Jensen, 1996) e mais recentemente carvedilol (Fazio, 1998).

Concluindo podemos afirmar que, nos últimos 30 anos desde a introdução da doxorubicina na prática clínica, uma gama e de novos conhecimentos tem-se

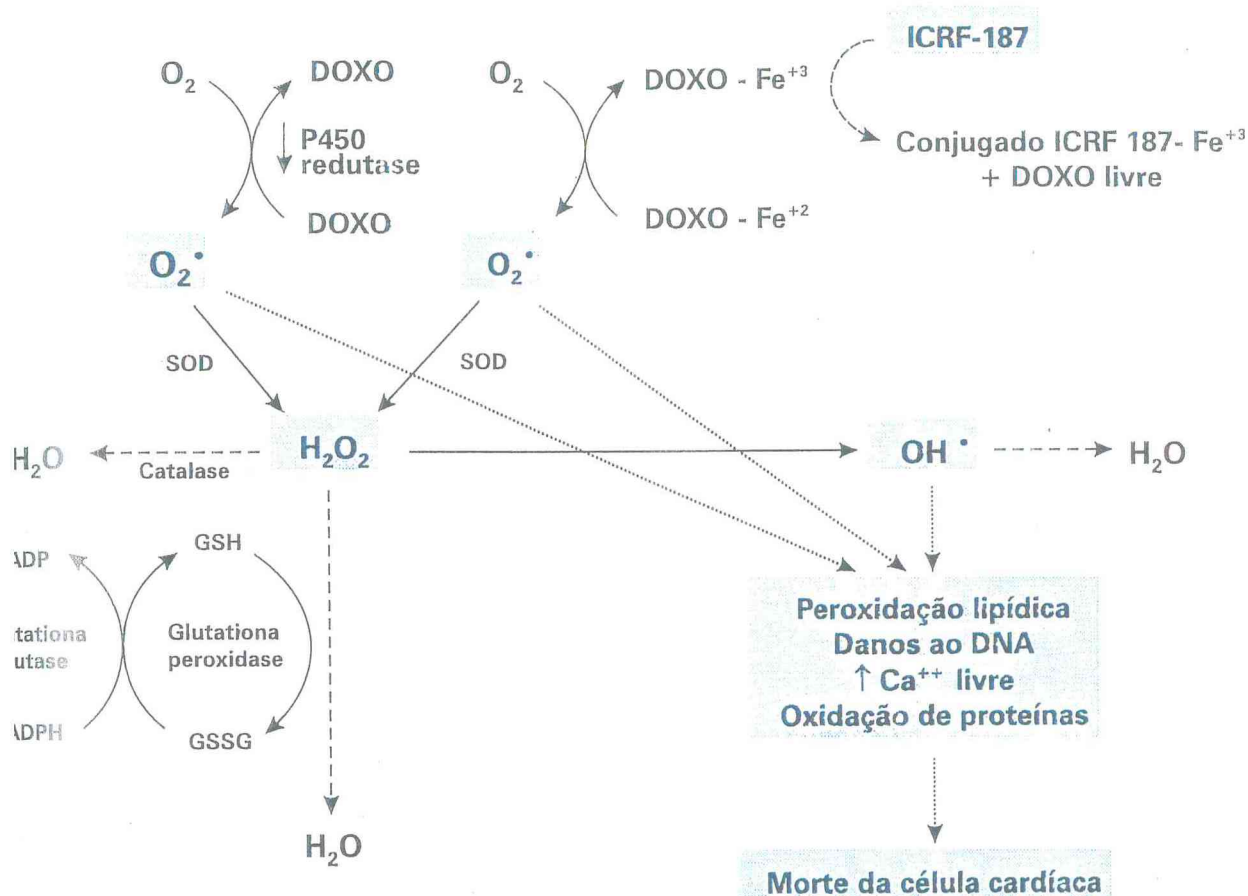
avolumado na tentativa de estabelecer os mecanismos mediadores do seu efeito cardiotoxico. A exploração desses mecanismos levou à descoberta de cardioprotetores, e nesse contexto, atualmente, o dexarazoxane (ICRF-187) tem papel de destaque. A pesquisa de novos mecanismos, além daqueles relacionados única e exclusivamente à geração de radicais livres, pode permitir a descoberta de outros cardioprotetores, os quais, aliados aos já conhecidos, levarão ao uso mais racional e seguro da doxorubicina.

Tabela 1: O ICRF PREVINE AS ALTERAÇÕES NA FRAÇÃO DE ENCURTAMENTO DO VENTRÍCULO ESQUERDO (VE - % Δ D) INDUZIDAS POR DOXORUBICINA (DXR)#

Grupos	Fração de Encurtamento do VE (%ΔD)
Controle (salina 0,9%)	66,5 \pm 3,325
DXR	38,25 \pm 1,191
DXR + ICRF-187	65,5 \pm 3,275

As doses totais de ICRF-187 e DXR foram 500 e 25 mg/kg, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais durante duas semanas. O ICRF-187 foi administrado 1 hora antes da DXR. Os registros ecocardiográficos transtorácicos foram obtidos pelo Modo-M com sonda de 7,5 MHz na 5ª semana após o início do tratamento. Foram utilizados 10 animais por grupo (n = 10). Os valores são expressos como média \pm desvio padrão. (*) p < 0,05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey), (Costa, 1996).

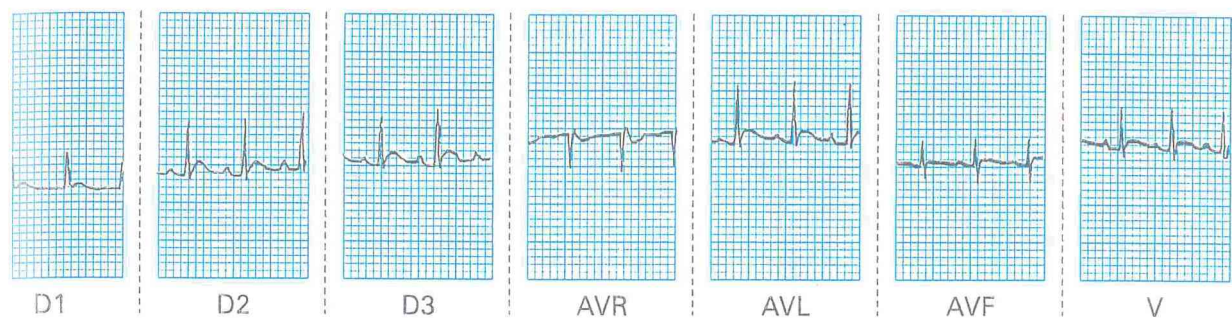
Figura 1: FORMAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E SUA RELAÇÃO COM O METABOLISMO DA DOXORUBICINA (DOXO)



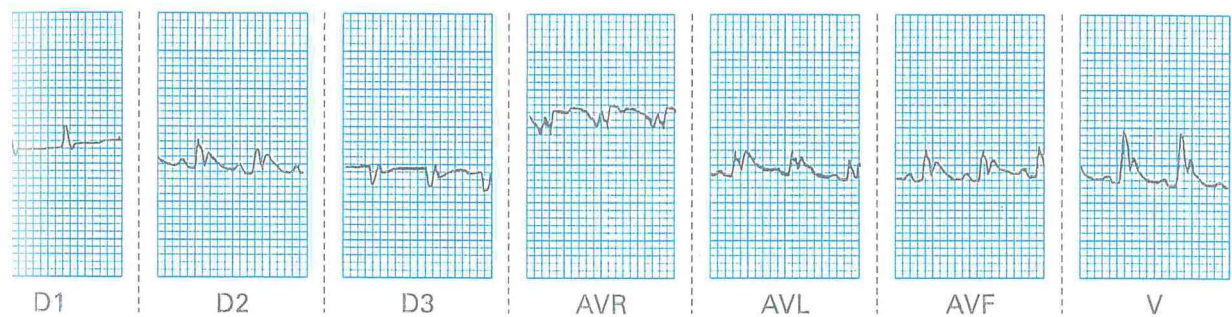
Os dois tipos de ativação da DOXO são mostrados: (1) redução enzimática pelas enzimas do citocromo P450 com formação do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e (2) formação do conjugado $DOXO-Fe^{+3}$. O $O_2^{\cdot-}$ é novamente formado na reoxidação desse conjugado. Os ânions superóxidos são reduzidos a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela superóxido desmutase (SOD) e, caso não sofram ação pela catalase ou glutatona-peroxidase (GSH-peroxidase), irão formar o radical hidroxil (OH^{\cdot}) que juntamente com o H_2O_2 irão promover os danos à célula cardíaca. O agente quelante de Fe, ICRF-187, previne o passo (2) desse processo.

Figura 2 : TRAÇADOS ELETROCARDIOGRÁFICOS
ANIMAIS TRATADOS COM ICRF-187 E DÓXORUBICINA (DOXO).

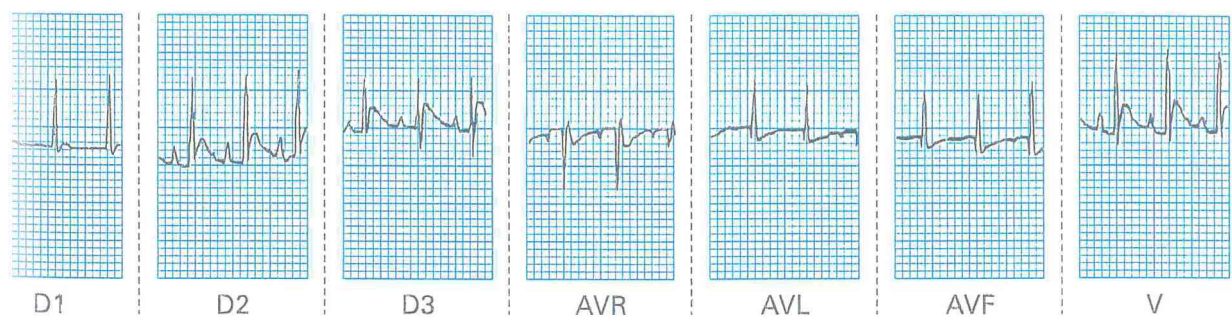
Controle (Salina)



Dóxorubicina (25 mg / kg / dose total)



ICRF-187 (500 mg / kg / Dose total)



Observa-se que o tratamento com ICRF-187 (500mg/kg) previne de forma estatisticamente significativa ($p < 0.05$ - ANOVA -) as alterações na voltagem do complexo QRS [controle (salina): $1mV \pm 0.12$; DOXO (25mg/kg): $0.6mV \pm 0.065$; ICRF-187 (500mg/kg): $1mV \pm 0.12$], e o alargamento do segmento QT [controle (salina): $0.2seg \pm 0.123$; DOXO (25mg/kg): $0.38seg \pm 0.012$; ICRF-187: $0.2seg \pm 0.0121$]. (Costa, 1996) com permissão.

DROGAS TESTADAS COMO AGENTES CARDIOPROTETORES:

TALIDOMIDA

A fórmula molecular é $C_{13}H_{10}N_2O_4$. O peso molecular é 258.233.

Aprovada pelo FDA em julho de 1998.

CLASSE DA DROGA: Imunomoduladora.

Descrição:

A talidomida uma N-fitalimidoglutarimida, é um agente imunomodulador. A talidomida é um pó branco, quase cristalino solúvel em dimetil-sulfóxido (DMSO) a 25°C e parcialmente solúvel em água e etanol. A molécula de glutarimida contém um único centro assimétrico e, portanto, pode existir em qualquer um de duas formas óticamente ativas designadas S -(-) ou R-(+). A talidomida é uma mistura igual das formas S-(-) e R-(+), portanto, tem uma rotação ótica de zero (Neubert et al., 1996).

Farmacologia Clínica:

Mecanismo de ação:

A talidomida é um agente imunomodulador com espectro de atividade que é plenamente caracterizado como descrito abaixo:

- a) Inibe a quimiotaxia de leucócitos para os sítios inflamatórios (Faure et al., 1980).
- b) Altera a densidade das moléculas de adesão induzidas por TNF- α sobre a superfície de leucócitos (Geitz et al., 1996).
- c) Reduz a fagocitose dos polimorfonucleares (Barnhill et al., 1984).
- d) Aumenta a produção das interleucinas 4 e 5 por células mononucleares; e inibe a produção de interferon γ (McHugh et al., 1995).
- e) Inibe a produção de interleucina 12 (Moller et al., 1997).
- f) Inibe a produção de TNF- α por monócitos e macrófagos por reduzir a meia-vida do RNAm (Sampaio et al., 1991; Moriera et al., 1993).

A redução da fagocitose pelos polimorfonucleares, pode explicar a ação da talidomida nos processos inflamatórios envolvendo predominantemente as células mononucleares como as manifestações cutâneas do Lúpus Eritematoso Sistêmico (Barnhill et al., 1984).

O seu mecanismo de ação não é completamente entendido em pacientes com Eritema Nodoso da Lepra (ENL) (Sampaio, Moriera e Sarno, 1992). Dados disponíveis de estudos *in vitro* e estudos clínicos preliminares sugerem que os seus efeitos imunológicos podem variar substancialmente sob diferentes condições, mas podem estar relacionados à inibição do TNF- α (Fator de necrose tumoral alfa) e modulação negativa da produção de moléculas de adesão da superfície envolvidas na migração leucocitária (Sampaio et al., 1993; Neubert et al., 1996). Por exemplo, a administração de talidomida foi utilizada para diminuir os níveis circulantes de TNF- α em pacientes com ENL (Sampaio et al., 1993). Entretanto, também foi mostrado um aumento nos níveis de TNF- α no plasma de pacientes de soropositivos para HIV (Jacobson et al., 1997).

A talidomida tem sido utilizada em uma gama de outras patologias dermatológicas como a estomatite aftosa (Torras et al., 1982); nas lesões pustulosas cutâneas típicas da Síndrome de Behçet (Jorizzo et al., 1986); nas lesões cutâneas do Lupus Eritematoso (Knop et al., 1983) e pênfigo nodular (Van den Broek, 1980).

Nos pacientes HIV-positivos têm sido utilizada para controlar as ulcerações em mucosa oral (úlceras aftosas) (Radeff et al., 1990) e nas síndromes metabólicas associadas à caquexia (Grunfeld et al., 1992).

Outra forma de utilização mais recente tem sido o uso na doença do enxerto contra o hospedeiro, em pacientes submetidos a transplante alogênico de medula óssea (Saurat et al., 1988 e Lim et al., 1988); na artrite reumatóide (Arend et al., 1995) e em pacientes portadores de Mieloma Múltiplo, onde age provavelmente inibindo a síntese de IL-6 pelos plasmócitos neoplásicos.

Farmacocinética:

Em estudos realizados em voluntários saudáveis como portadores de doença de Hansen, o tempo médio para concentração de picos plasmáticos (T_{max}) de talidomida variou de 2.9 a 5.7 horas que indicam que a talidomida é lentamente absorvido da área gastrointestinal. Enquanto a extensão de absorção (medida por área sob a curva [AUC]) é proporcional a dose em indivíduos saudáveis, a concentração máxima de (C_{max}) aumenta de maneira inversamente proporcional. Esta falta de proporcionalidade do C_{max} , juntamente com o aumento observado nos valores de T_{max} , sugere que a solubilidade pobre da talidomida em meio aquoso pode estar impedindo o índice de absorção (Jacobson et al., 1997).

A administração de talidomida junto a uma refeição rica em lipídeos causa diminuição (<10%) nas mudanças nos valores de AUC e de C_{max} , entretanto, causa um aumento em T_{max} em aproximadamente 6 horas. A extensão da ligação da talidomida com proteínas plasmática é desconhecida (Zeldis et al., 1999).

Metabolismo:

Atualmente, a rota metabólica exata e o destino da talidomida não é conhecida em humanos (Zeldis et al., 1999). A talidomida não parece ser metabolizada por via hepática, em grande quantidade, mas parece sofrer hidrólise não-enzimática no plasma em múltiplos metabólitos. Num estudo em que repetidas doses de 200 mg eram administradas em 10 mulheres saudáveis por 18 dias, a talidomida exibiu perfis semelhantes de farmacocinética do primeiro ao último dia. Isto sugere que a talidomida não induz nem inibe o próprio metabolismo (Wolkeinstein et al., 1998).

Eliminação:

A meia-vida varia de aproximadamente 5 a 7 horas, seguidos a uma única dose e não é alterada por múltiplas doses. A talidomida tem um clearance renal de 1.15 ml/minuto com menos que 0.7% do excretado na urina como droga inalterada. Após uma única dose, os níveis urinários de talidomida foram indetectáveis 48h após utilização. Embora tenha se pensado que a talidomida fosse hidrolisada em vários metabólitos (Mellin et al., 1962), só uma quantidade muito pequena (0.02% da

dose administrada) de OH-talidomida foi identificada na urina 12 a 24 horas após ingestão da droga (Sarno et al., 1991).

Farmacocinética em populações especiais:

Nos indivíduos soropositivos para HIV não há diferença significativa aparente entre os parâmetros farmacocinéticos, quando comparados a pessoas saudáveis recebendo a mesma dose da droga (Naum et al., 1995; Ball et al., 1997).

Dados de um estudo feito com portadores de Hanseníase sugerem que estes pacientes, diferentes dos indivíduos saudáveis, têm uma biodisponibilidade aumentada da talidomida, refletida por um aumento da área sobre a curva do pico de concentrações plasmáticas (Sheskin et al., 1965; Tseng et al., 1996). A importância clínica deste aumento é desconhecida.

Em portadores de insuficiência renal e doença hepática, não foram realizados estudos farmacocinéticos.

Foi realizado um estudo farmacocinético com indivíduos voluntários saudáveis com idade entre 20 e 69 e não se observou qualquer mudança relacionada à idade (Barnhill et al., 1984).

Não existem estudos farmacocinéticos com a talidomida em indivíduos menores de 18 anos. Também não foram conduzidos estudos para averiguar se haveriam diferenças entre os gêneros ou entre as raças.

Estudos clínicos:

Os primeiros dados que demonstram a eficácia da talidomida no tratamento das manifestações cutâneas do Eritema Nodoso da Lepra, foram publicados em um estudo retrospectivo realizado nos E.U. A em pacientes tratados em serviços de saúde pública.

Os dados sobre a eficácia da talidomida na prevenção de recaídas do ENL foram derivados de uma avaliação retrospectiva de 102 pacientes tratados sob os auspícios do Serviço de Saúde Pública dos E.U.A. Um subgrupo de pacientes com ENL controlado com o uso da talidomida demonstrou repetidas recaídas com a retirada da droga e remissão com reinstituição da terapia (McHugh et al., 1995).

Vinte pacientes entre as idades de 11 e 17 anos foram tratados com talidomida, geralmente em 100 mg diariamente. Os índices de resposta e perfis de segurança eram semelhantes àqueles observados na população adulta.

Trinta e dois outros estudos publicados contendo mais de 1600 pacientes demonstram consistentemente o tratamento geralmente bem sucedido das manifestações cutâneas moderadas e severas do ENL com talidomida (Sampaio et al., 1991; Moriera et al., 1993).

Indicações:

A talidomida está indicada para o tratamento das manifestações cutâneas agudas moderadas e severas do Eritema Nodoso da Lepra. A talidomida não é indicada como monoterapia para tal tratamento na presença de neurite moderada ou severa. A talidomida também está indicada como terapia de manutenção para prevenção e supressão das manifestações cutâneas recorrentes do ENL (Hastings et al., 1970).

Contra-indicações e efeitos adversos:

Devido a seu conhecido efeito teratogênico, seguido de uma única dose, a talidomida é contra-indicada em mulheres grávidas ou mulheres em idade fértil, quando não há tratamento alternativo as mulheres em idade fértil podem ser tratadas desde que utilizem métodos contraceptivos eficazes. Geralmente, o recomendado é a utilização de mais de um método, sendo um deles de extrema eficácia como: DIU, anticoncepcionais, ligadura tubária ou vasectomia do companheiro (Stevens et al., 1997).

O início da terapia com talidomida em mulheres em idade fértil só deve ser iniciado após quatro semanas de início da terapia hormonal. Para casos onde a instituição da terapia deva ser urgente, deve ser realizado teste de gravidez pelo menos 24h antes de iniciar a utilização da droga e então a cada semana do primeiro mês de tratamento com talidomida (Bessis et al., 1992).

A talidomida pode causar importantes efeitos teratogênicos. Os pacientes deverão ser instruídos a tomar talidomida só como prescrito e não partilhar a droga com ninguém, porque não é sabido se a talidomida está presente no sêmen de homens que utilizam a droga. Homens que estejam fazendo uso de talidomida

sempre devem usar preservativo de látex quando desempenhar atividade sexual com mulheres com risco potencial de engravidar (Klausner et al., 1996).

Neuropatia Periférica:

A neuropatia periférica é um efeito potencialmente severo comum no tratamento com talidomida e pode ser irreversível. A neuropatia periférica geralmente ocorre com o uso crônico seguida de um período de meses, entretanto, também surge em tratamentos de curto prazo. A correlação com dose cumulativa ainda não está elucidada. Os sintomas podem ocorrer algum tempo depois que o tratamento de talidomida foi parado e pode reverter lentamente ou não.

Poucos relatos de neuropatia surgiram no tratamento de ENL apesar de tratamento em longo prazo com a talidomida, principalmente devido à dificuldade de estabelecer o diagnóstico em pacientes já portadores freqüentemente de neuropatia (Fullerton e O'Sullivan, 1968).

Os pacientes devem ser examinados em intervalos mensais para os primeiros três meses de terapia com talidomida a fim de capacitar o clínico a captar sinais prévios de neuropatia, que incluem entorpecimento, tremores ou dor nas mãos e pés. Os pacientes devem ser avaliados periodicamente, durante e depois do tratamento (Gardner et al., 1994).

Pentoxifilina

A fórmula molecular é $C_{13}H_{18}N_4O_3$. O peso molecular é 278.3102

CLASSE DA DROGA: Distúrbios Vasculares, Cerebral/Periférico.

Indicações: Claudicação intermitente

Aprovada pelo FDA 1984 (Agosto)

Descrição:

Trental® (pentoxifilina) comprimidos para administração oral contém 400 mg da droga ativa e mais os ingredientes inativos: álcool benzílico, Vermelho D&C no. 27 laca de alumínio ou Vermelho FD&C no. 3, hidroxipropil metilcelulose, estearato de magnésio, polietileno glicol, povidone, talco, dióxido de titânio, e outros ingredientes. Trental é um derivado da xantina designado quimicamente como: 1-(5-oxohexil)-3, 7-dimetilxantina que, diferente da teofilina, é um agente hemorreológico, i.e., um agente que afeta a viscosidade do sangue. A Pentoxifilina é solúvel em água e etanol, e parcialmente solúvel em tolueno (Aviado et al., 1984).

Farmacologia Clínica:

Modo de Ação:

A pentoxifilina e seus metabólitos melhoram as propriedades do fluxo sanguíneo através da diminuição da viscosidade. Em pacientes com doença arterial periférica crônica, esta melhora no fluxo sanguíneo afeta a microcirculação e aumenta a oxigenação tissular. O modo de ação precisa da pentoxifilina e a seqüência de eventos que levam à melhora clínica ainda não estão bem definidos. A administração de pentoxifilina tem mostrado produzir efeitos hemorreológicos, diminuição da viscosidade e melhora na flexibilidade dos eritrócitos. As propriedades hemorreológicas importantes dos leucócitos têm sido modificadas em estudos *in vitro* realizados em animais e humanos. A pentoxifilina tem mostrado aumentar a deformabilidade dos leucócitos e inibir a ativação e adesão dos neutrófilos. Os níveis de oxigenação tissular têm demonstrado significativos aumentos em pacientes com doença arterial periférica recebendo doses terapêuticas (Ward et al., 1987).

Farmacocinética de Metabolismo:

Após administração oral em solução aquosa a pentoxifilina é completamente absorvida. Ela sofre um efeito de primeira passagem e vários metabólitos aparecem no plasma logo após a primeira dose. O pico plasmático do componente principal e seus metabólitos são alcançados dentro de 1 hora. Os principais metabólitos são: Metabólito I (1-[5-hydroxi-hexil]-3,7-dimetilxantina) e Metabólito V (1-[3-carboxipropil]-3,7-dimetilxantina), e os níveis plasmáticos desses metabólitos são 5 a 8 vezes maiores, respectivamente, do que a pentoxifilina. A co-administração de comprimidos de pentoxifilina com as refeições resulta em um aumento em média da C_{max} e AUC pelo menos em torno de 28% and 13% para pentoxifilina, respectivamente. A C_{max} para o metabólito M^1 também aumenta em torno de 20%. Acompanhando a administração oral de solução aquosa contendo 100 a 400mg de pentoxifilina, a farmacocinética do principal composto e do metabólito I são dose-dependentes e não proporcional (não-linear), com meia-vida, área sob a curva e curva de nível sérico (AUC) aumentando com a dose. A cinética de eliminação do metabólito V não é dose dependente. A aparente meia-vida da pentoxifilina varia de 0.4 a 0.8 horas e a aparente meia-vida plasmática de seus metabólitos varia de 1 a 1.6 horas. Não existem evidências de acúmulo ou indução enzimática (Citocromo P_{450}) acompanhando múltiplas doses por via oral. A excreção é totalmente urinária, o principal produto de biotransformação é o metabólito V. Essencialmente o principal composto não é encontrado na urina. Apesar de uma grande variação nos níveis plasmáticos do principal composto e seus metabólitos, a recuperação urinária do metabólito V é consistente e mostra proporcionalidade na dose. Menos de 4% da dose administrada é recuperada nas fezes. A ingestão de comida antes do uso da droga A farmacocinética e metabolismo da pentoxifilina não tem sido estudada em pacientes com disfunção renal e/ou hepática, mas a AUC estava aumentada e a taxa de eliminação diminuiu em pacientes idosos (60-68 anos) comparados a indivíduos jovens (22-30 anos) (Müller et al., 1983; Aviado et al., 1984; Ward et al., 1987).

Após a administração de um comprimido de liberação programada de 400 mg de pentoxifilina, os níveis plasmáticos do principal composto e seus metabólitos atingem seu máximo dentro de 2 a 4 horas e permanece constantes

aproximadamente este mesmo tempo. Os comprimidos de pentoxifilina de liberação controlada melhoram a tolerância gástrica a este composto (Guerrini et al., 1983).

Indicações e uso:

A pentoxifilina está indicada para o tratamento de pacientes com claudicação intermitente devido à doença arterial oclusiva crônica dos membros. A pentoxifilina pode melhorar a função e os sintomas, mas não tenciona substituir uma terapêutica mais definitiva, como o "bypass" cirúrgico, ou a remoção da obstrução arterial através do tratamento da doença vascular periférica (Aviado et al., 1984)

Contra Indicações:

A pentoxifilina não deve ser usada em pacientes com hemorragia cerebral e/ou retiniana recente ou em pacientes que tenham exibido previamente intolerância a este produto ou a metilxantinas como cafeína, teofilina ou teobromina (Warde et al., 1987)

Precauções:

Gerais:

Pacientes com doença arterial oclusiva crônica dos membros freqüentemente mostram outras manifestações de doença arterioesclerótica. A pentoxifilina tem sido usada com segurança para tratamento de doença arterial periférica em pacientes com doença arterial coronariana e doença cerebrovascular concomitante, mas têm sido ocasionalmente descritos episódios de angina, hipotensão (McMillan et al, 1993). Estudos controlados não demonstraram que a pentoxifilina causa efeitos adversos mais freqüentemente do que placebo, mas, como ele é um derivado da metilxantina, é possível diferença individual nas respostas. Pacientes utilizando cumarínicos têm que monitorar o TAP mais freqüentemente, enquanto que pacientes com outros fatores de risco complicados por hemorragia (e.g., cirurgia recente, úlcera péptica, sangramento cerebral ou retiniano) devem ter monitorado periodicamente os níveis de hematócrito e hemoglobina (Manrique et al., 1987).

Carcinogênese, Mutagênese e Infertilidade:

Estudos em longo prazo do potencial carcinogênico da pentoxifilina foram conduzidos em ratos e camundongos, através da administração diária da droga em doses aproximadamente 19 vezes (450 mg/kg) da máxima recomendada em humanos dose diária (MRHD) de 24 mg/kg por 18 meses em camundongos e 18 meses em ratos com um adicional de seis meses sem exposição à droga após o final do estudo. Não foi notado potencial carcinogênico na pentoxifilina no estudo com camundongos. No estudo com ratos, existiu um aumento estatisticamente significativo de fibroadenoma benigno em fêmeas que receberam altas doses (19 x MRHD). A relevância deste achado para o uso humano é incerta desde que isto foi apenas um aumento estatisticamente significativo marginal, pois é um tumor comum em ratas idosas. A pentoxifilina foi destituída de atividade mutagênica em várias cepas de *Salmonella* (Ames test) quando testada na presença e na ausência de ativação metabólica ¹ (Ward et al., 1987)

Gravidez:

Categoria C. Estudos teratogênicos têm sido realizados em ratos e coelhos nas doses orais acima de 25 a 10 vezes o máximo recomendado para as doses humanas diárias (MRHD) de 24mg/kg respectivamente. Não foram observadas evidências de malformações fetais. Aumento da reabsorção foi vista em ratos com MRHD de 25 vezes. Não existem, entretanto, estudos bem controlados em mulheres grávidas. Porque os estudos em reprodução animal não são preditivos da resposta em humanos, a pentoxifilina poderia ser utilizada na gestação apenas se claramente necessária ² (Ward et al., 1987)

Interações medicamentosas:

Embora uma relação causal não tenha sido estabelecida, existem relatos de prolongamento no tempo de sangramento e/ou no TAP (Tempo de Atividade de Protrombina) em pacientes tratados com pentoxifilina e sem uso de anticoagulantes ou antiagregantes plaquetários. Pacientes utilizando cumarínicos devem ter o TAP

¹ Disponível na Internet via <http://www.rxlist.com/cgi/generic/petnox.htm>.

² Disponível na Internet via http://www.rxlist.com/cgi/generic/pentox_cp.htm.

mais freqüentemente monitorado, enquanto que pacientes com outros fatores de risco complicados por hemorragia (e.g. cirurgia recente, úlcera péptica) deverão ter além de avaliação da coagulação, a dosagem do hematócrito e/ou hemoglobina. A administração concomitante de pentoxifilina e drogas contendo teofilina levam a um aumento nos níveis da teofilina e toxicidade a teofilina em alguns indivíduos. Cada paciente deve ser monitorado de perto e ter suas doses de teofilina ajustadas individualmente se necessário. A pentoxifilina tem sido usada concomitantemente com drogas anti-hipertensivas, beta-bloqueadores, digitálicos, diuréticos, agentes antidiabetogênicos e antiarrítmicos, sem serem observados problemas. Uma pequena diminuição na pressão arterial tem sido observada em alguns pacientes tratados com pentoxifilina, portanto, aferições periódicas da pressão arterial são recomendadas para pacientes recebendo terapêutica anti-hipertensiva concomitante. Se indicado a dosagem do anti-hipertensivo deve ser reduzida (Hammerschmidt et al., 1988).

Efeitos colaterais:

Estudos clínicos foram conduzidos utilizando ambas, comprimidos de liberação programada e por mais de 60 semanas e cápsulas de liberação imediata por mais de 24 semanas. A dosagem em ambas as apresentações era de 400mg. A Tabela 1 resume a incidência (em percentual) dos efeitos adversos, bem como o número de pacientes que receberam os comprimidos de liberação controlada, cápsulas de liberação imediata, ou os correspondentes placebos. A incidência de reações adversas foi mais alta nos pacientes que receberam cápsulas (onde os efeitos colaterais observados eram principalmente digestivos e no sistema nervoso) do que nos que receberam comprimidos (Ward et al., 1987).

Justificativa e Objetivos

Justificativa e objetivos do estudo

A doxorubicina tem o mais amplo espectro de atividade anti-tumoral de todos os agentes quimioterápicos e é utilizada com um alto grau de eficácia em muitos tipos de câncer. É provavelmente o quimioterápico mais utilizado em todo o mundo e a maioria dos pacientes que necessitam de tratamento sistêmico para câncer recebe doxorubicina em algum tempo do curso clínico da sua doença. O maior obstáculo para o seu uso é a cardiotoxicidade, que está intimamente relacionada com as doses cumulativas recebidas durante o tratamento. Muitos esforços têm sido feitos na tentativa de descobrir meios de melhorar, prevenir, ou retardar o início desta cardiotoxicidade. Um dos métodos tem sido criar análogos da doxorubicina que causem menos cardiotoxicidade. Concomitante a estes estudos com análogos de cardiotoxicidade existe o interesse em drogas que possam ser administradas por via oral e tenham melhor eficácia anti-tumoral, especialmente para alguns tipos de câncer como melanoma e carcinoma de cólon que não respondem a terapêutica com doxorubicina.

Nas últimas décadas alguns análogos têm sido sintetizados ou isolados. Vários desses análogos são utilizados com sucesso, como é o caso da idarubicina, que pode ser administrada também por via oral. Outros estão sendo submetidos a estudos clínicos.

Muitos desses novos análogos têm sido testados em estudos clínicos e outros têm sido retirados por causa da sua inferioridade sob certos aspectos.

Vários modelos animais reproduzindo as alterações morfológicas, bioquímicas e da função cardíaca têm sido descritos e usados para a avaliação de novos análogos (Doroshov et al., 1979; Solcia et al., 1981). Entretanto muitos dos métodos propostos são de difícil aplicação, devido ao tamanho dos animais empregados (ex. macaco, cão e coelho) ou os longos intervalos de tempo requeridos para o desenvolvimento de cardiomiopatia. Em estudos anteriores desenvolvemos um modelo experimental para o estudo da cardiotoxicidade induzida por doxorubicina em ratos onde consistentes e significativas alterações funcionais e morfológicas miocárdicas puderam ser observadas em um tempo relativamente curto (Costa, 1996).

Em estudos pré-clínicos monitoramos a incidência e severidade do dano miocárdico induzido por antracíclicos, utilizando o rato como modelo animal e demonstramos que ele é capaz de monitorar acuradamente, efetivamente e reprodutivelmente a cardiomiopatia. Utilizando estes parâmetros pudemos avaliar o efeito cardioprotetor da talidomida e pentoxifilina (Costa, 1996).

A pentoxifilina tem sido utilizada em vários estudos como agente terapêutico no manuseio da insuficiência cardíaca por suas propriedades de inibir a produção de TNF- α (Kapadia et al., 1998) e também por sua ação antioxidante (Bergman, 1996).

A utilização da pentoxifilina como: a) agente protetor das injúrias pulmonares provocadas por radioterapia (Movsas et al., 1996); b) modulador da produção de TNF- α no miocárdio lesado (Bergman, 1996); c) agente antioxidante na injúria de reperfusão do miocárdio (Clark et al., 1999); d) prevenção da cardiomiopatia induzida por doxorubicina em ratos (Costa, 1996), motivaram a continuação da nossa pesquisa com o intuito de administrar a droga na tentativa de prevenir ou minorar as injúrias miocárdicas produzidas pela administração dos seus análogos em ratos.

A talidomida entra no estudo por suas propriedades imunomoduladoras e por atuar como inibidor da síntese de uma série de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , que pode ter participação nos mecanismos promotores de cardiotoxicidade.

O objetivo geral deste trabalho foi: a) realizar um estudo comparativo entre a doxorubicina e os análogos antracíclicos mais utilizados na clínica, usando o modelo animal estabelecido em estudos anteriores; b) testar o papel cardioprotetor da talidomida e pentoxifilina, através da análise de parâmetros de cardiotoxicidade aguda e crônica; c) identificar os possíveis mecanismos implicados na gênese da cardiotoxicidade dos antracíclicos.

Os principais objetivos específicos foram:

1. Aprimorar o modelo animal de cardiotoxicidade induzida por antracíclicos;
2. Introduzir novos marcadores de cardiotoxicidade como a mensuração dos níveis séricos de troponina T, CK-MB e LDH;

3. Testar a eficácia dos novos parâmetros comparando-os aos já previamente estabelecidos para investigação de cardiotoxicidade;
4. Avaliar a atividade de diferentes bloqueadores farmacológicos da cardiotoxicidade induzida por doxorubicina, como talidomida e pentoxifilina, sobre a cardiotoxicidade de outros análogos antracíclicos;
5. Acrescentar novos parâmetros para aferição de cardiotoxicidade experimental, com potencial para serem testados em ensaios clínicos;
6. Caracterizar uma possível inibição da cardiotoxicidade por talidomida e pentoxifilina, de modo que pudessem ser extrapolados os limites preconizados das doses cumulativas de doxorubicina;
7. Validar um modelo animal de cardiotoxicidade induzida por doxorubicina e análogos antracíclicos, de fácil execução e parâmetros fidedignos, para o estudo pré-clínico de novos análogos e de agentes cardioprotetores.

Material e Métodos

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos Wistar (*Ratus norvegicus*) machos e fêmeas, com pesos entre 120 e 200 gramas, procedentes do Biotério Central do Campus do Pici - UFC e transferidos para o Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (CCS - UFC), onde foram colocados em gaiolas apropriadas, permanecendo de 5 a 6 animais em cada uma delas. Todos receberam ração comercial balanceada e água “*ad libitum*”, e foram mantidos nas mesmas condições ambientais durante os experimentos.

Aparelhos e instrumentos laboratoriais

- Eletrocardiógrafo (BERGER, Modelo CD-188)
- Agulhas fenestradas de aço inoxidável
- Papel para registro (DARU)
- Cabo de aterramento
- Suporte isolante de isopor para permanência do animal durante obtenção

do traçado.

- Câmara anestésica (confeccionada no laboratório)
- Seringas de 1ml, 3ml, 5ml, 10ml e 20ml (BD Plastipak)
- Alicates para deslocamento cervical
- Luvas descartáveis (Johnson's)

- Cubetas para colocação de material para histopatológico
- Tubos Eppendorf
- Pipetas Pasteur
- Tesoura cirúrgica
- Lâminas para microscopia
- Microscópio óptico binocular (NIKON)
- Câmaras de Neubauer (0,100/0,0025 mm²)
- Tubos de ensaio
- Pipetas automáticas de 50µL, 200µL e 1000µL
- Material cirúrgico (pinças e tesouras)
- Centrífuga Excelsa Baby I, Modelo 206 (FANEM)
- Agitador magnético
- Balanças Analíticas (Metler e Marte)
- Capela de Fluxo Laminar (VECO)
- Ecocardiógrafo Bi-Dimensional com Doppler (ALOKA - SSD643)
- Contador automático de células (COULTER - Counter)
- Pincel Atômico (PILOT)
- Geladeira
- Freezer
- Tubos de polipropileno para centrífuga (GIBCO) 15 e 50ml.
- Kit da BioSystems para Creatine Kinase-MB (CKMB)
- Kit da BioSystems para Desidrogenase Láctica UV (LDH UV)
- Kit para mensuração de Troponina T da Boehringer Mannheim
- Fotômetro com cubeta termostaticada

- Cronômetro
- Pipetas para medir amostras e reagentes
- Leitor automático de ELISA

SOLUÇÕES, DROGAS E CORANTES UTILIZADOS

- Doxorubicina (Cloridrato de Adriamicina) :
Nome comercial : Adriblastina (Farmitália Carlo Ebra) frascos de 10 e 50mg sob a forma de pó liofilizado.
- Soro fisiológico (0,9%) (CEME) Frascos de 500ml.
- Epirubicina (Cloridrato de Epirubicina) :
Nome comercial: Farmorubicina (Pharmacia & Upjohn) frascos de 10 e 50mg sob a forma de pó liofilizado.
- Idarubicina (Cloridrato de Idarubicina)
Nome comercial : Zavedos (Pharmacia & Upjohn) frascos de 5 e 10mg de cloridrato de idarubicina sob a forma de pó liofilizado.
- Mitoxantrona (Cloridrato de mitoxantrona) :
Nome comercial : Novantrone (Laboratórios Wyeth-Whitehall - Divisão Lederle) frascos de 20 e 30mg de cloridrato de mitoxantrona sob a forma de uma solução aquosa azul-escuro.
- Talidomida : Comprimidos de 100mg fabricados pela CEME (Central de Medicamentos).
- Pentoxifilina:
Nome comercial : Trental (Hoechst) ampolas de 4ml (100mg/ml).

- Líquido de Turk (diluidor para contagem de glóbulos brancos)
 - Ácido acético glacial P.A (Merck)..... 20,0 ml
 - Violeta de genciana..... 2,0 ml
 - Água destilada..... 1,0 litro
- Corante May-Grunwald-Giemnsa (corante para análise de esfregaço de sangue periférico).
 - May-Grunwald (Sigma)..... 1,5 grama
 - Giemsa (Sigma)..... 1,0 grama
 - Metanol (Merck)..... 1,0 litro
- Formol (Solução a 10%)
- Hematoxilina (REAGEN)
- Eosina (REAGEN)
- DMSO (Dimetil sulfóxido / Sigma)
- Cloridrato de Lidocaína a 2% (CEME)
- Hidrato de Cloral (pó liofilizado)

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Indução de cardiotoxicidade com antracíclicos:

Utilizamos o modelo de cardiotoxicidade induzido por doxorubicina desenvolvido em nosso laboratório (Costa, 1996), que é uma adaptação de outros modelos de cardiotoxicidade desenvolvido por vários autores (SASKIA et al., 1995; ZHANG et al., 1995; COTTIN et al., 1994; RAMOS, 1987), com o objetivo de induzir

a lesão cardíaca, porém com uma satisfatória condição de sobrevivência dos animais utilizados no experimento. Optamos portanto, por uma dose de 25mg/Kg, que corresponde à aproximadamente 600mg/m², para a doxorubicina; 39,5mg/kg (~900mg/ m²) para a epirubicina; 16,6mg/kg (~400mg m²) para a idarubicina e 6,6 (160mg/ m²) para a mitoxantrona.

- Um total de 7 grupos com 10 animais em cada grupo pesando entre 120 a 200g foram tratados da seguinte forma:
 - a) Grupo 1: Soro fisiológico 0,9%, 0,5ml via i.p., em 6 aplicações a cada 3 dias.
 - b) Grupo 2 : Adriblastina (Cloridrato de Doxorubicina), 25mg /Kg (~600mg/m²) fracionada em 6 aplicações por via intra-peritoneal a cada 3 dias.
 - c) Grupo 3 : Adriblastina (Cloridrato de Doxorubicina), 37,5mg /Kg (~900mg/m²) fracionada em 12 aplicações por via intra-peritoneal a cada 3 dias durante com intervalo de 2 semanas entre cada ciclo de 6 aplicações.
 - d) Grupo 4 : Adriblastina (Cloridrato de Doxorubicina), 40mg /Kg (~1000mg/m²) fracionada em 12 aplicações por via intra-peritoneal a cada 3 dias, com intervalo de 2 semanas entre cada ciclo de 6 aplicações.
 - e) Grupo 5 : Farmorubicina (Cloridrato de Epirubicina), 50 mg /Kg/dose total (~1200mg/m²) fracionada em 6 aplicações por via intra-peritoneal a cada 3 dias.
 - f) Grupo 6 : Zavedos (Cloridrato de Idarubicina), 20mg /Kg/dose total (~480mg/m²) fracionada em 6 aplicações por via intra-peritoneal, a cada 3 dias

- g) Grupo 7 : Mitoxantrona (Cloridrato de Mitoxantrona), 8mg /Kg/dose total (~192mg/m²) fracionada em 6 aplicações por via intra-peritoneal, a cada 3 dias.

PARÂMETROS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DA CARDITOXICIDADE

Análise eletrocardiográfica

Obtivemos os traçados eletrocardiográficos de todos os animais, antes de iniciar o tratamento após o término do tratamento para os grupos 1,2, 5, 6 e 7. Nos grupos 3 e 4 (doses excedentes de doxorubicina), que receberam 2 ciclos de 6 aplicações do quimioterápico, o ECG foi realizado no início e fim de cada 6 ciclos.

Realizamos uma curva dose-resposta das alterações eletrocardiográficas dos animais tratados com epirubicina, idarubicina e mitoxantrona, a curva dose resposta com a doxorubicina já havia sido realizada em experimentos anteriores (Costa, 1996). O aparelho utilizado foi um eletrocardiógrafo BERGER, calibrado para gravar na amplitude de 2cm/mv (2N) e à uma velocidade de 50mm/s.

Os ratos foram anestesiados, em câmara anestésica, com éter sulfúrico. A seguir os animais foram colocados em posição supina, sobre um suporte de isopor. Os eletrodos então foram introduzidos no tecido celular subcutâneo dos membros do animal nas posições padronizadas para obtenção das derivações clássicas. A derivação precordial foi obtida na região para esternal esquerda aproximadamente na altura do 5º. espaço intercostal (reproduzindo a derivação V1).

Dos traçados eletrocardiográficos obtidos analisamos duas derivações D2 e V1, e os parâmetros mensurados foram : duração do intervalo QT (expresso em segundos) e voltagem do complexo QRS (expresso em milivolts).

Ambos foram medidos com régua medidora de eletrocardiograma (milimetrada), fornecida pelo laboratório Hoechst do Brasil. O intervalo QT foi corrigido pela frequência cardíaca (QTc), através da seguinte fórmula :

$$QTc = \frac{QT}{\sqrt{R.R}} \quad (\text{BAZETT, 1920}).$$

Estudo ecocardiográfico :

Os padrões de normalidade relacionados aos parâmetros ecocardiográficos já haviam sido estabelecidos em experimentos anteriores, como já revisamos na introdução ao explorarmos o modelo de cardiotoxicidade induzido por doxorubicina em nosso laboratório. Os animais foram anestesiados com Hidrato de cloral a 10% por via i.p, a seguir eram colocados em posição supina e depois em decúbito lateral direito. O aparelho utilizado foi um ALOKA (SSD623) bi-dimensional com doppler e a sonda foi de 7,5MHz. Um afastador foi utilizado para melhor obtenção de imagem e o corte utilizado foi o paraesternal transverso. Para análise da fração de encurtamento do ventrículo esquerdo, expressa em % Δ D, utilizamos o Modo-M e obtivemos a leitura fornecida pelos cálculos realizados pelo aparelho.

Análise Ponderal :

Todos os animais foram pesados antes do início do tratamento e depois semanalmente até o sacrifício e os valores expresso em Δ de peso, em relação ao peso inicial.

Marcadores Bioquímicos:

a) Dosagem de Troponina T (Elisa):

A base da cauda dos ratos foi anestesiada com Cloridrato de Lidocaína a 2%, a cauda foi aquecida com água morna para se obter vasodilatação. Em seguida seccionamos a ponta da cauda com uma tesoura. Foram colhidos 0,8ml em tubo Eppendorf contendo 20 μ l de solução de heparina, depois centrifugado e separado o plasma. As amostras de plasma foram congeladas até a realização do ensaio. Utilizamos o "kit" de ELISA para mensuração de Troponina T (em humanos) da Boehringer Mannheim.

b) Dosagem de CK-MB:

A base da cauda dos ratos foi anestesiada com Cloridrato de Lidocaína a 2%, a cauda foi aquecida com água morna para se obter vasodilatação. Em seguida seccionamos a ponta da cauda com uma tesoura. Foram colhidos 0,8ml em tubo Eppendorf contendo 20 μ l de solução de heparina, depois centrifugado em centrífuga eppendorf e separado o plasma. As amostras de plasma foram congeladas até a realização do ensaio. Utilizamos o "kit" da BioSystems para Creatine Kinase-MB (CK-MB) que utiliza a técnica de imunoinibição.

c) Dosagem de LDH:

A base da cauda dos ratos foi anestesiada com Cloridrato de Lidocaína a 2%, a cauda foi aquecida com água morna para se obter vasodilatação. Em seguida seccionamos a ponta da cauda com uma tesoura. Foram colhidos 0,8ml em tubo Eppendorf contendo 20 μ l de solução de heparina, depois centrifugado em

centrífuga de eppendorf e separado o plasma. As amostras de plasma foram congeladas até a realização do ensaio. Utilizamos o "kit" da ABBOTT que utiliza a técnica de fotometria no ultravioleta.

Estudo hematológico:

A base da cauda dos ratos foi anestesiada com Cloridrato de Lidocaína a 2%, a cauda foi aquecida com água morna para se obter vasodilatação. Em seguida seccionamos a ponta da cauda com uma tesoura. Foram colhidos 0,8ml em tubo de Eppendorf contendo 20 μ l de solução de heparina. Este sangue foi utilizado para realização de hemograma e contagem plaquetária em contador eletrônico de células (CELL-DYN3000) aferido para contagem de sangue de ratos conforme instruções no manual. Obtivemos o hemograma antes de iniciar o tratamento, no final da administração da doxorubicina e antes de sacrificar os animais.

Análise do índice cardíaco:

Os animais após o registro eletrocardiográfico eram sacrificados. Dos corações dissecados, retiramos os vasos da base e pesamos em balança de precisão, o peso cardíaco foi dividido pelo peso corporal obtido antes do sacrifício e multiplicado por 100, para obtenção do índice cardíaco. Em seguida o coração era aberto com um corte sagital do ápice a base e colocado em solução de formol a 10% para posterior análise histopatológica.

Análise do índice hepático

O fígado foi retirado e também pesado em seguida. O peso hepático foi dividido pelo peso corporal e multiplicado por 100, para obtenção do índice hepático.

Análise do índice esplênico

O baço foi retirado após o fígado e pesado logo em seguida. O peso do baço foi dividido pelo peso corporal e multiplicado por 100 para obtenção do índice esplênico.

Análise histopatológica do coração

Após 24 horas de fixação o coração foi incluído em parafina de maneira que a microtomia acompanhasse a mesma superfície de corte da abertura do coração. Foram feitos cortes seriados de 6 micrômetros. Estes cortes foram corados pela hematoxilina-eosina escalonadamente a cada 4 cortes. Para análise microscópica do coração foram selecionadas de maneira aleatória, lâminas contendo 2 cortes, com a identificação lacrada, de forma a não ser visualizada pelo observador.

Achados como edema e congestão vascular, foram avaliados apenas como presentes ou ausentes e receberam para nível de escore a pontuação de 0 e 1, respectivamente. Utilizamos um microscópio NIKON e a análise foi feita em um aumento de 400x.

O sistema usado para o escore das outras lesões histológicas do coração, como picnose nuclear e vacuolização citoplasmática é abaixo discriminado:

Tabela 12. Escores para as alterações histopatológicas:

	Ausente	Escassa	Moderada	Intensa
Quanto a intensidade das lesões (picnose nuclear)	0	1	2	3

	Ausente	Focal	Confluente	Difusa
Quanto a disposição das lesões (núcleos picnóticos)	0	1 (esparcos)	2 (bem agrupados)	3 (forma esparsa)

Para estabelecer o grau de picnose nuclear foram contados 50 núcleos em cada campo, quanto a intensidade da lesão foi considerada escassa menos de 5 núcleos picnóticos por campo, moderada de 10 a 20 e intensa acima de 20 núcleos picnóticos. Quanto a disposição da lesão foi considerada focal, núcleos picnóticos esparcos, confluyente os núcleos picnóticos bem agrupados em determinados locais do campo microscópico e difusa aqueles distribuídos de forma esparsa.

Este escore foi estabelecido para cada campo, e analisamos um total de 5 campos em cada lâmina, escolhidos de modo aleatório. O escore microscópico foi obtido pela mediana dos campos analisados em cada lâmina e depois a mediana dos grupos estudados.

Grupos experimentais

Grupo controle

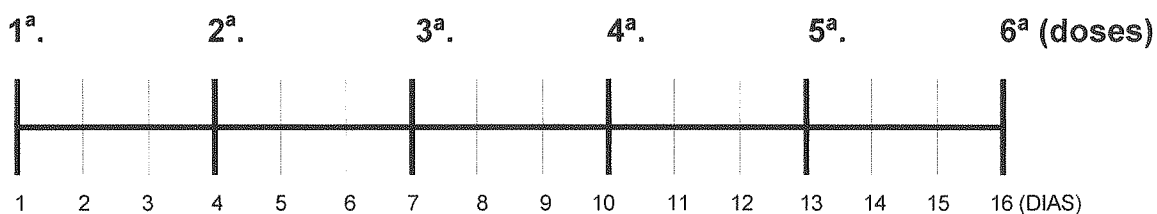
Este grupo foi constituído de 10 animais, que receberam injeções i.p de 0,5ml de salina (soro fisiológico 0,9%) estéril, em 6 doses, por um período de 2 semanas e após 3 semanas do término do tratamento eram sacrificados.

Grupos da doxorubicina

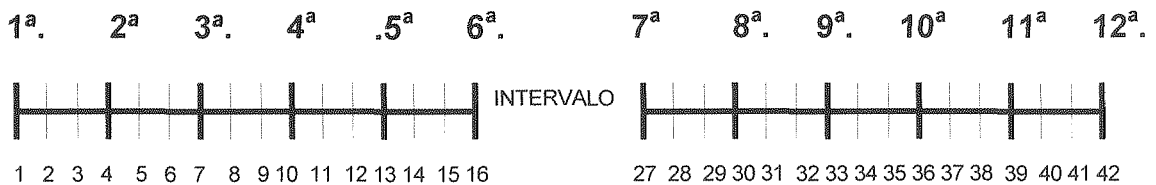
Este grupo foi subdivido em 3 subgrupos (10 animais), para avaliar o grau de alterações observadas com variações nas doses administradas. No primeiro subgrupo administramos a dose cardiotoxica convencional (25mg/Kg/dose total, ou 600mg/m²), no segundo a dose de 37,5mg/Kg (~ 900mg/ m²) e no terceiro chegamos a uma dose total de 1000mg/ m² (40mg/kg/dose total). A droga foi diluída em água destilada, 10 ml para cada 10mg (1mg/ml).

Administração: a)Subgrupo A (25mg/Kg/dose total): A droga foi administrada por via intra-peritoneal a cada 3 dias por um período de 16 dias. Os animais foram sacrificados na 5^a semana após o início do tratamento.

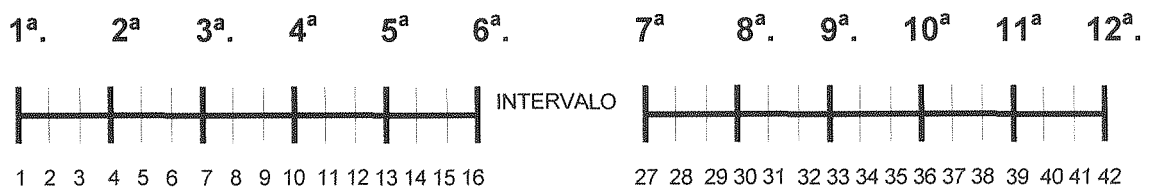
Protocolo do tratamento:



b) Subgrupo B: Animais que usaram a dose de 37,5mg/kg/dose total e por um período de 32 dias com intervalo de 10 dias entre as primeiras 6 doses e eram sacrificados na 10^a. semana.



b) Subgrupo C: Animais que usaram a dose de 40mg/kg/dose total e por um período de 32 dias com intervalo de 10 dias entre as primeiras 6 doses e eram sacrificados na 10^a. semana.



Grupos da Epirubicina (Farmorubicina)

Este grupo, foi dividido em 2 subgrupos (10 animais), para avaliar o grau de alterações observadas com variações nas doses administradas. No primeiro subgrupo administramos a dose total preconizada (50mg/Kg/dose total), no segundo utilizamos 50% da dose total (25mg/Kg). A droga foi diluída em água destilada, 10 ml para cada 10mg (1mg/ml) e administrada por via intra-peritoneal a cada 3 dias por um período de 2 semanas, decorridas 5 semanas os animais eram sacrificados.

Grupos da Idarubicina:

Este grupo, foi dividido em 2 subgrupos (10 animais), para avaliar o grau de alterações observadas com variações nas doses administradas. No primeiro subgrupo administramos a dose total preconizada (20mg/Kg/dose total), no segundo utilizamos 50% da dose total (10mg/Kg). A droga foi diluída em água destilada, 10 ml para cada 10mg (1mg/ml) e administrada por via intra-peritoneal a cada 3 dias por um período de 2 semanas, decorridas 5 semanas os animais eram sacrificados.

Grupos da Mitoxantrona:

Este grupo, foi dividido em 2 subgrupos (10 animais), para avaliar o grau de alterações observadas com variações nas doses administradas. No primeiro subgrupo administramos a dose total preconizada (8mg/Kg/dose total), no segundo utilizamos 50% da dose total (4mg/Kg). A droga foi diluída em água destilada, 10 ml para cada 10mg (1mg/ml) e administrada por via intra-peritoneal a cada 3 dias por um período de 2 semanas, decorridas 5 semanas os animais eram sacrificados.

Grupo da Talidomida

Este grupo foi dividido em 6 subgrupos (10 animais), assim distribuídos:

- a) 1º. subgrupo : DXR 25mg/Kg/dose total (divididos em 6 aplicações)
+ TLD 60mg/kg (diariamente).
- b) 2º. subgrupo : DXR 37,5mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + TLD 60mg/kg (diariamente).

- c) 3°. subgrupo : DXR 40mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + TLD 60mg/kg (diariamente).
- d) 4°. subgrupo : EPI 50mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + TLD 60mg/kg (diariamente).
- e) 5° subgrupo: IDA 20mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + TLD 60mg/kg (diariamente).
- f) 6°. subgrupo : MIT 8mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + TLD 60mg/kg (diariamente).

Os comprimidos de 100mg de talidomida (CEME) foram dissolvidos em DMSO (Dimetil sulfóxido) 0,2ml e diluídos em 9,8ml de salina 0,9% acidificada (pH 5,0) concentração final de DMSO de 2%. Esta solução era homogeneizada por 30 minutos no agitador magnético e logo após administrada aos animais por via-subcutânea. Todos os subgrupos foram tratados com a dose padronizada dos antracíclicos com indutoras de carditoxicidade 1 hora após tratamento com a talidomida.

Grupo da Pentoxifilina

Este grupo foi dividido em 6 subgrupos (10 animais), assim distribuídos:

- g) 1°. subgrupo : DXR 25mg/Kg/dose total (divididos em 6 aplicações) + PTX 60mg/kg (diariamente).
- h) 2°. subgrupo : DXR 37,5mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + PTX 60mg/kg (diariamente).

- i) 3°. subgrupo : DXR 40mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + PTX 60mg/kg (diariamente).
- j) 4°. subgrupo : EPI 50mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + PTX 60mg/kg (diariamente).
- k) 5° SUBgrupo: IDA 20mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + PTX 60mg/kg (diariamente).
- l) 6°. subgrupo : MIT 8mg/Kg/dose total (divididos em 12 aplicações) + PTX 60mg/kg (diariamente).

A pentoxifilina (Trental) foi administrada por via-subcutânea (0,1mg=1ml), 1 hora antes o tratamento com os quimioterápicos. Todos os subgrupos foram tratados com a dose padronizada dos antracíclicos com indutoras de carditoxicidade + um excedente de 20% da dose preconizada, 1 hora após tratamento com a pentoxifilina.

Análise Estatística

Os resultados dos experimentos foram expressos como média \pm DP ou mediana, acompanhado pelo número de observações (n).

Para comparações entre os grupos, os seguintes testes estatísticos foram utilizados, tendo sido considerados como significativo $p < 0.05$:

- a) Análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas e aplicação do teste de Tukey, utilizando níveis de significância maior que 95%.
- b) Análise de variância (ANOVA) e aplicação do teste de Tukey, utilizando níveis de significância maior que 95%.
- c) Correlação linear e coeficiente de correlação (R), com análise de variância entre as duas subpopulações (ANOVA), considerando os intervalos de confiança de 95% e $p < 0.05$.
- d) Teste de KRUSKAL-WALLIS foi utilizado para comparação das alterações histológicas entre os grupos.

Resultados

RESULTADOS

3.1 Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com doxorubicina em doses excedentes

Os ECGs dos animais controle não mudou durante o curso do estudo. O segmento PR, o complexo QRS, os intervalos ST e QT permaneceram constantes e a forma do ECG não mudou (observar ECG representativo na Figura 3). Para o grupo controle a média de duração do segmento QT foi 0,02s e a média da voltagem 1mV, nas derivações D2 e V1. A doxorubicina teve uma profunda influência na forma do ECG; quando administrada em doses cardiotoxícas (25mg/Kg/dose total) e estas alterações permaneceram as mesmas quando elevamos as doses para 37.5mg/kg (~900mg/m²) e 40mg/kg (~1000mg/m²). Dos animais tratados com a dose de 25mg, 85% apresentaram alterações em todas as derivações do ECG, que consistiram em aumento na média de duração do segmento QT e redução na amplitude do complexo QRS, cujo valor médio foi 0,6mV, os mesmos resultados foram observados com as doses mais elevadas.

Nestes grupos, semelhante ao controle, não observou-se arritmias ou anormalidades no segmento PR.

Consideramos as alterações eletrocardiográficas encontradas (aumento do QT e diminuição de amplitude do QRS) sinais de cardiotoxicidade droga-induzida, como já foi anteriormente descrito na literatura (SEYDIN et al., 1994; VAN ACKER et al., 1995).

Observar que animais tratados com doxorubicina, nas doses acima citadas, mas recebendo concomitantemente 60mg/kg/dia de talidomida ou pentoxifilina (Figura 4), tiveram os seus traçados eletrocardiográficos semelhantes aos do grupo controle (Figura 3).

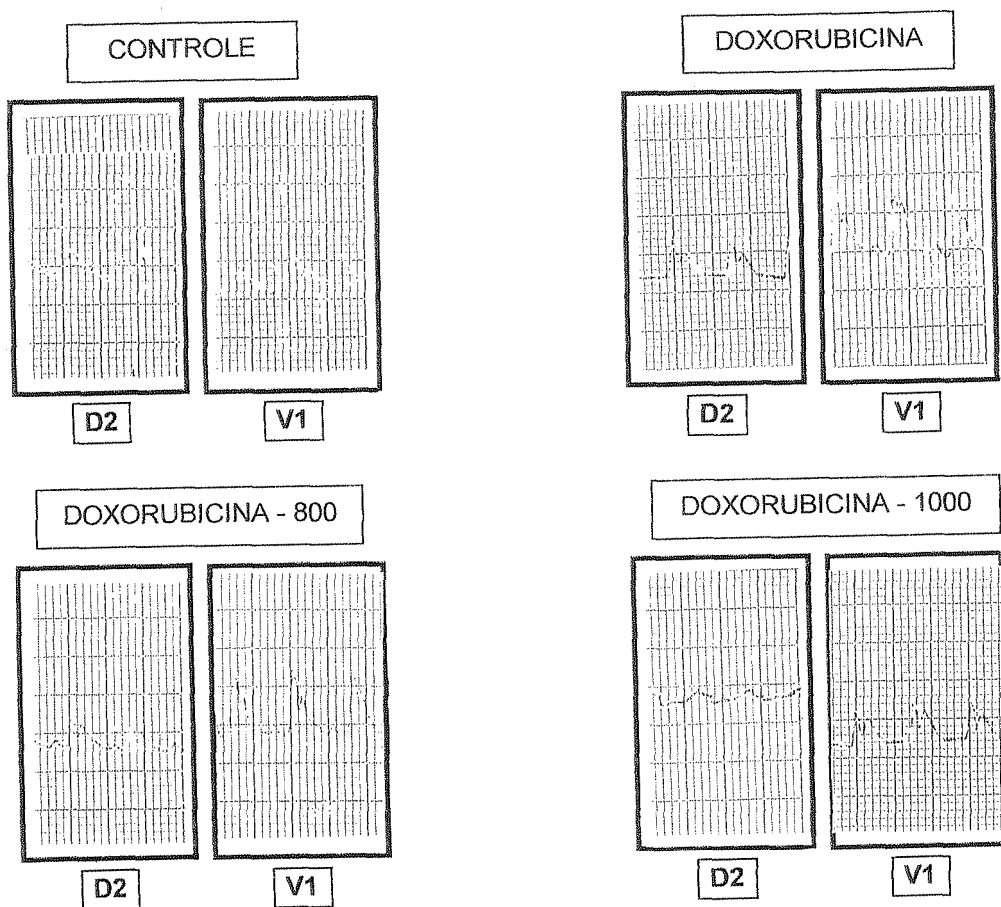
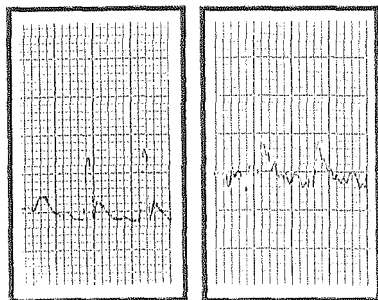


Figura 3. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com doxorubicina em doses excedentes : Observar que o eletrocardiograma do animal controle (NaCl 0,9%) não apresenta alterações. No ECG representativo dos grupos tratados com doxorubicina (DXR) nas doses de 25mg/kg, 37.5mg/kg ($\sim 900\text{mg}/\text{m}^2$) e 40mg/kg ($\sim 1000\text{mg}/\text{m}^2$) observar baixa voltagem do complexo QRS, aumento na duração do segmento QT nas derivações D2 e V1. Não se evidenciam arritmias ou alterações no segmento PR, em todos os traçados.

TRATAMENTO COM TALIDOMIDA

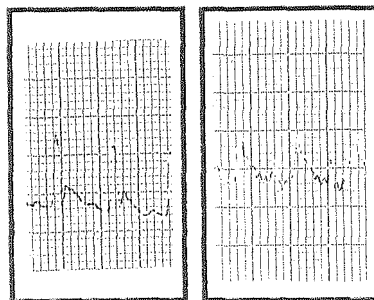
DOXORUBICINA - 800



D2

V1

DOXORUBICINA - 1000

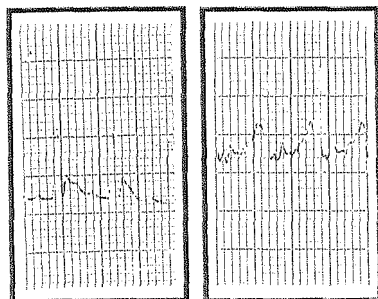


D2

V1

TRATAMENTO COM PENTOXIFILINA

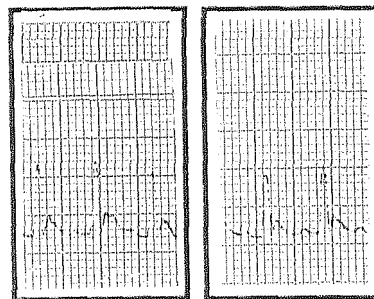
DOXORUBICINA - 800



D2

V1

DOXORUBICINA - 1000



D2

V1

Figura 4. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com talidomida ou pentoxifilina e doses excedentes de doxorubicina: Observar reversão das alterações eletrocardiográficas (baixa voltagem do complexo QRS), dos grupos tratados com doxorubicina (DXR) nas doses de 25mg/kg, 37.5mg/kg (~800mg/m²) e 50mg/kg (~1000mg/m²) + talidomida (60mg/kg/dia) ou pentoxifilina (60mg/kg/dia) observar. Não se evidenciam arritmias ou alterações no segmento PR, em todos os traçados.

3.2 A talidomida (TLD) e pentoxifilina previnem as alterações no QTc e voltagem do QRS induzidas por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade convencional

Nos animais tratados com doxorubicina nas doses de 25, 37.5 e 40mg/Kg/dose total, a duração do intervalo QTc obtida foi de 0,2s e eram semelhantes aos do controle. Na 4^a. semana de tratamento, nos animais tratados com doses de doxorubicina de 25, 37.5 e 40mg/Kg, houve alteração estatisticamente significativa ($p < 0.05$) no segmento QTc, que passou a medir 0,38s. O intervalo QT foi corrigido pela frequência cardíaca (QTc), que nos animais do grupo controle foi de 0,2s em todas as medições. Observar que o tratamento com talidomida (Figura 5) ou pentoxifilina (Figura 6) na dose de 60mg/kg/dia previne estas alterações.

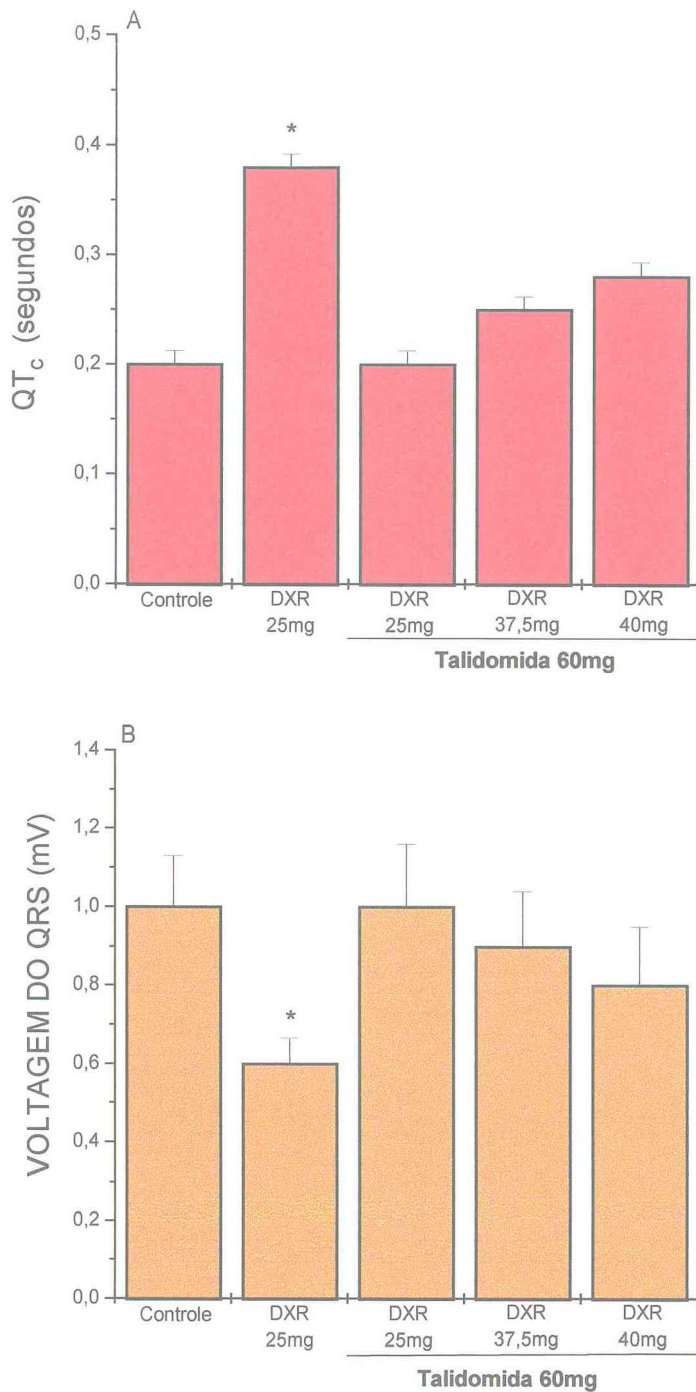


Figura 5. A talidomida (TLD) previne as alterações no QTc e voltagem do QRS induzidas por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicas: A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. Os traçados eletrocardiográficos dos animais que receberam 25mg/kg foram obtidos na 5^a. semana após o início do tratamento e os dos grupos restante na 10^a semana. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

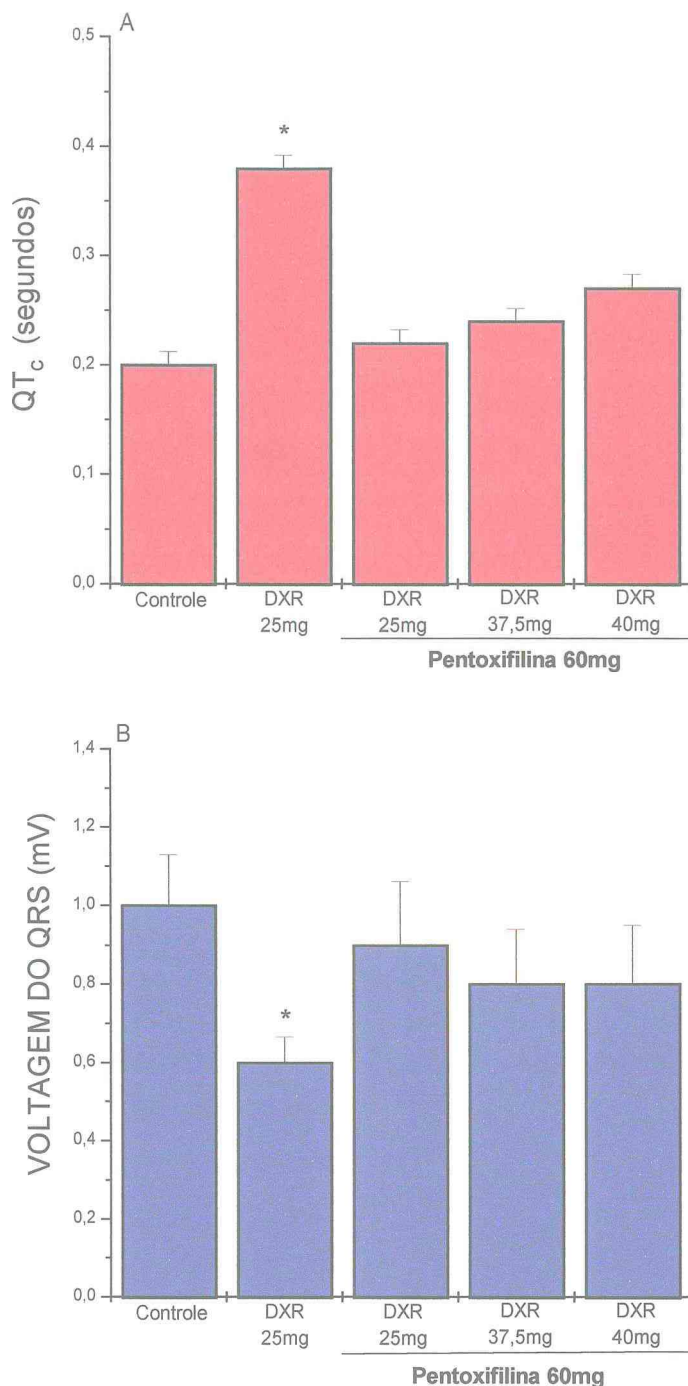


Figura 6. A pentoxifilina (PTX) previne as alterações no QTc e voltagem do QRS induzidas por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica: A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. Os traçados eletrocardiográficos dos animais que receberam 25mg/kg foram obtidos na 5^a. semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). ***p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).**

3.3 A talidomida e pentoxifilina previnem as alterações na fração de encurtamento de VE e no índice cardíaco induzidas por doses excedentes de doxorubicina

Observar que os animais tratados com talidomida ou pentoxifilina (60mg/kg/dia, para ambas) não apresentaram alterações significativas na fração de encurtamento do VE (% Δ D) induzidas por doxorubicina (Figuras 6 e 7, Painel A). No Painel B (Figuras 7 e 8), observar que a talidomida e pentoxifilina previnem significativamente as alterações no índice cardíaco.

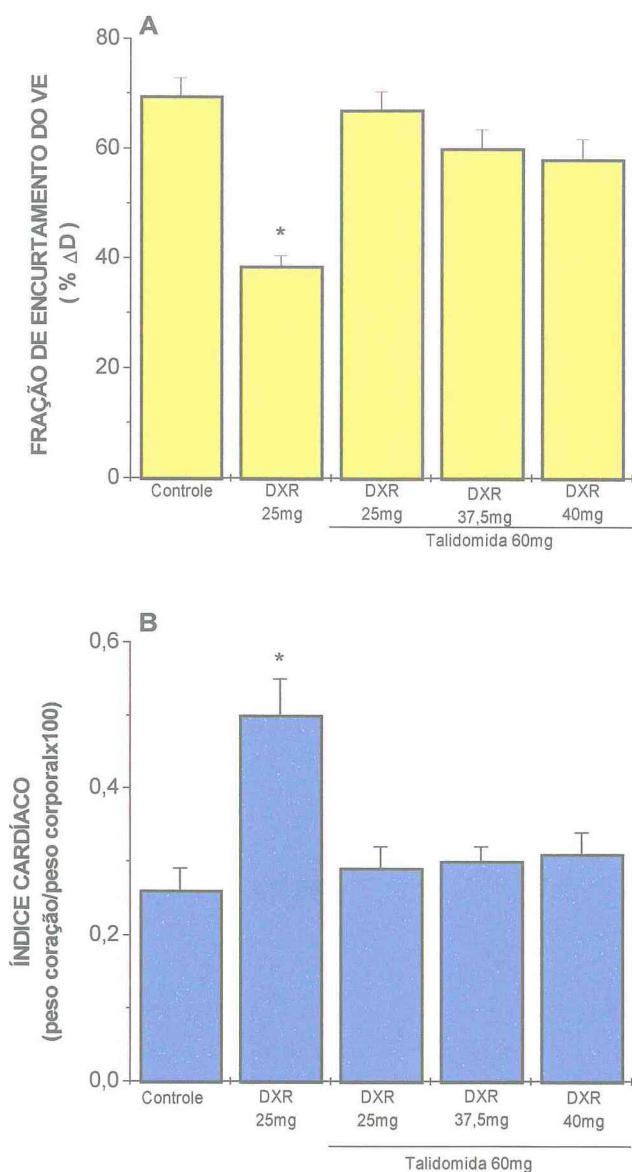


Figura 7. A talidomida previne as alterações na fração de encurtamento do VE (Painel A) e no índice cardíaco (Painel B) induzidas por doses excedentes de doxorubicina: A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg(600mg/m²), 37,5mg(900mg/m²) e 40mg(1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p. , respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas, com intervalo de 2 semanas entre as primeiras 6 aplicações. O registro ecocardiográfico e o índice cardíaco foram obtidos na 10^a. semana após o início do tratamento. As barras representam a média ± DP. O número de animais foi de 10 para cada grupo (N=10).*p<0.05 em relação ao controle (ANOVA-Tukey).

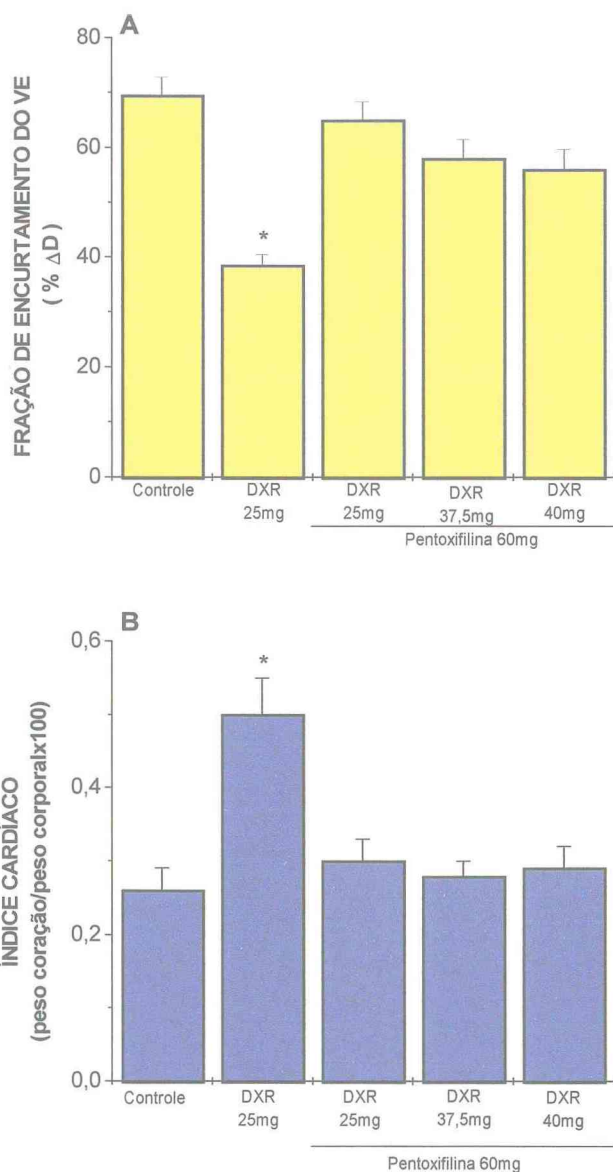


Figura 8. A pentoxifilina previne as alterações na fração de encurtamento do VE (Painel A) e no índice cardíaco (Painel B) induzidas por doses estendidas de doxorubicina: A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m²), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas, com intervalo de 2 semanas entre as primeiras 6 aplicações. O registro ecocardiográfico e o índice cardíaco foram obtidos na 10^a. semana após o início do tratamento. As barras representam a média ± DP. O número de animais foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao controle (ANOVA-Tukey).

3.4 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de troponina T (TnT) induzidos por doxorubicina em doses excedentes.

Observar a elevação nos níveis séricos da troponina T 30 a 40 vezes acima dos valores normais, nos animais tratados com doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total. O controle utilizado foi os animais que receberam apenas salina a 0,9% i.p.

Nos animais tratados com doxorubicina nas doses de 25, 37.7 e 40mg/kg/dose total, mas com uso concomitante de 60mg/kg/dia de talidomida (Figura 9) ou pentoxifilina (Figura 10), os níveis séricos de troponina T não se elevaram de forma significativa, mesmo com a administração da doxorubicina nas doses de 37.5 e 50mg, consideradas doses excedentes à dose cumulativa promotora de cardiotoxicidade.

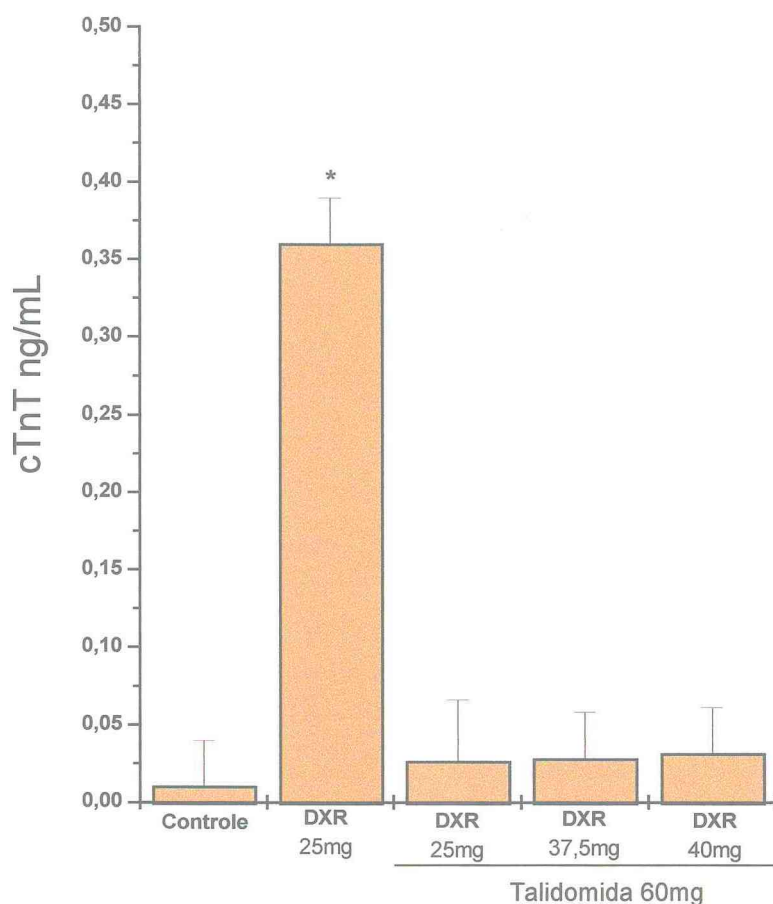


Figura 9. A talidomida previne a elevação dos níveis séricos de troponina T (TnT) induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica: A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais que receberam 25mg/gk foram obtidos na 6^a. semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média ± DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

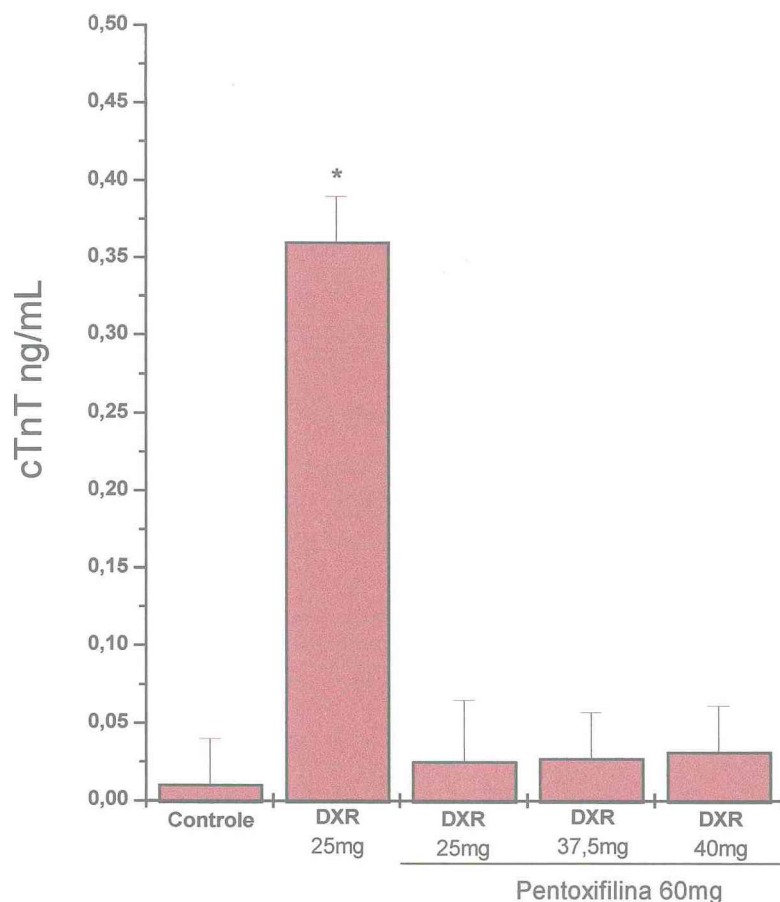


Figura 10. A pentoxifilina previne a elevação dos níveis séricos de troponina T (TnT) induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica: A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~800mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.). Os níveis séricos de TnT dos animais que receberam 25mg/gk foram obtidos na 6^a. semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média ± DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.5 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica convencional

Observar a elevação nos níveis séricos da CK-MB de três a quatro vezes acima dos valores obtidos nos animais que receberam apenas salina a 0,9% i.p., para animais tratados com doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total.

Nos animais tratados com 60 mg/kg/dia de talidomida (Figura 11) ou pentoxifilina (Figura 12), os níveis séricos de CK-MB não se elevaram de forma significativa, mesmo com a administração da doxorubicina nas doses de 37.5 e 40mg, consideradas doses excedentes à dose cumulativa promotora de cardiotoxicidade.

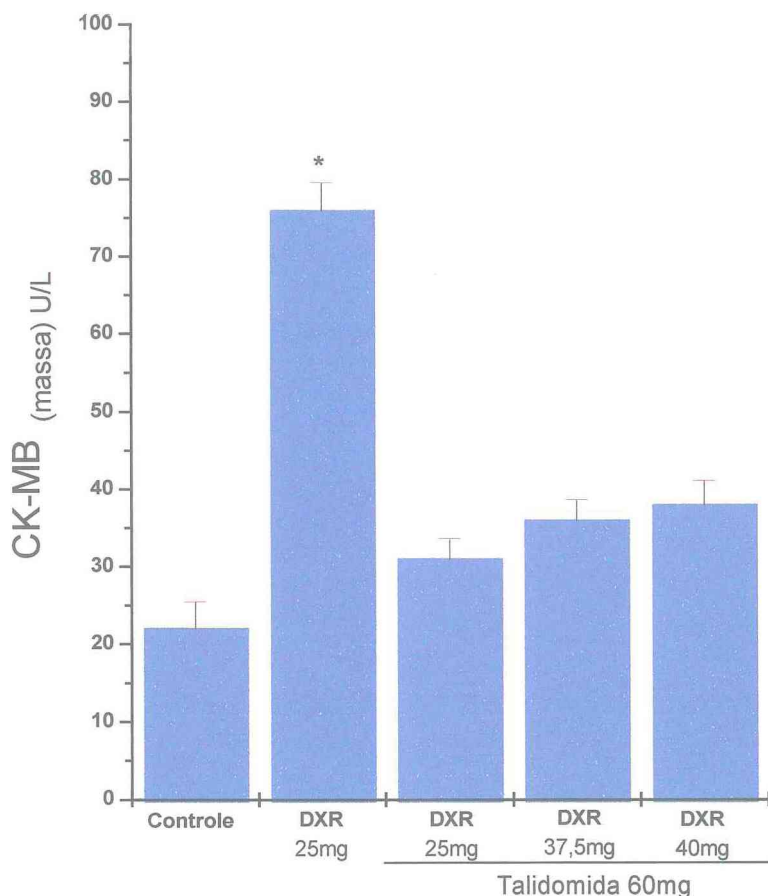


Figura 11. A talidomida previne a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade: A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais que receberam 25mg/gk foram obtidos na 6^a semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média ± DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

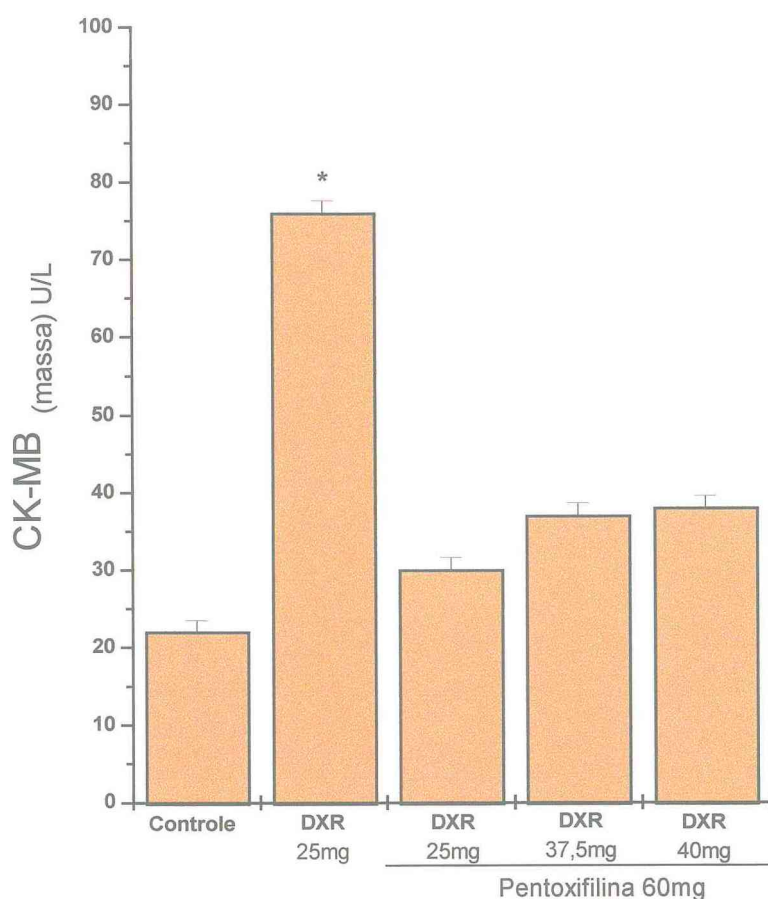


Figura 12. A pentoxifilina previne a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicas: A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais que receberam 25mg/gk foram obtidos na 6^a. semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média ± DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.6 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica convencional

Observar a elevação nos níveis séricos de LDH de três a quatro vezes acima dos valores obtidos nos animais que receberam apenas salina a 0,9% i.p., para animais tratados com doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total.

Nos animais tratados com 60 mg/kg/dia de talidomida (Figura 13) ou pentoxifilina (Figura 14), os níveis séricos de LDH não se elevaram de forma significativa, mesmo com a administração da doxorubicina nas doses de 37.5 e 40mg, consideradas doses excedentes à dose cumulativa promotora de cardiotoxicidade.

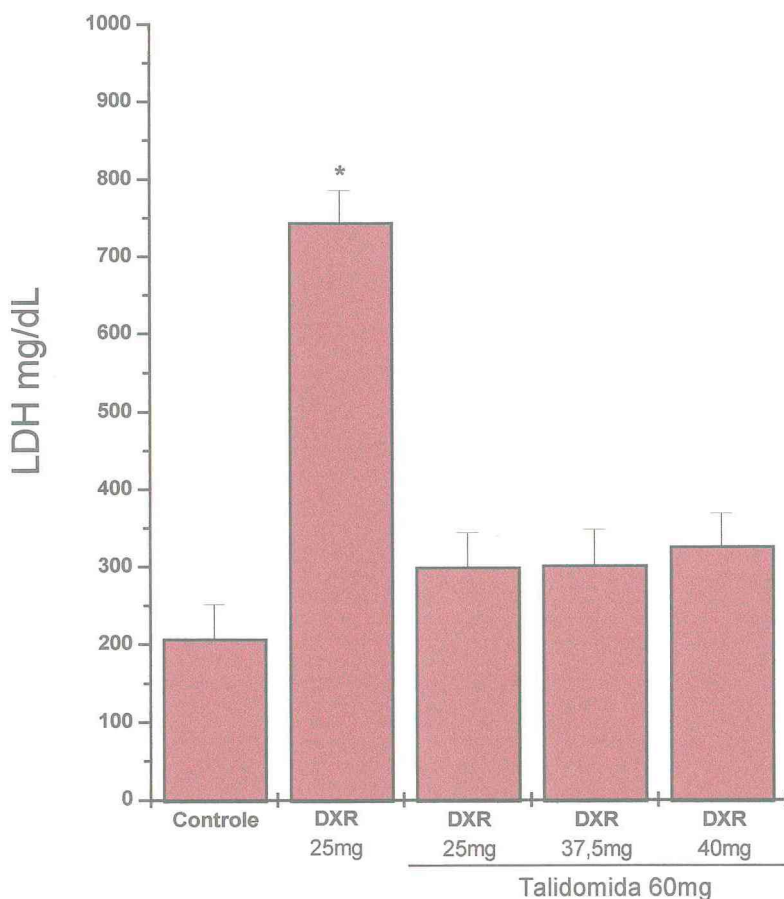


Figura 13. A talidomida previne a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica: A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais que receberam 25mg/gk foram obtidos na 6^a. semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média ± DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

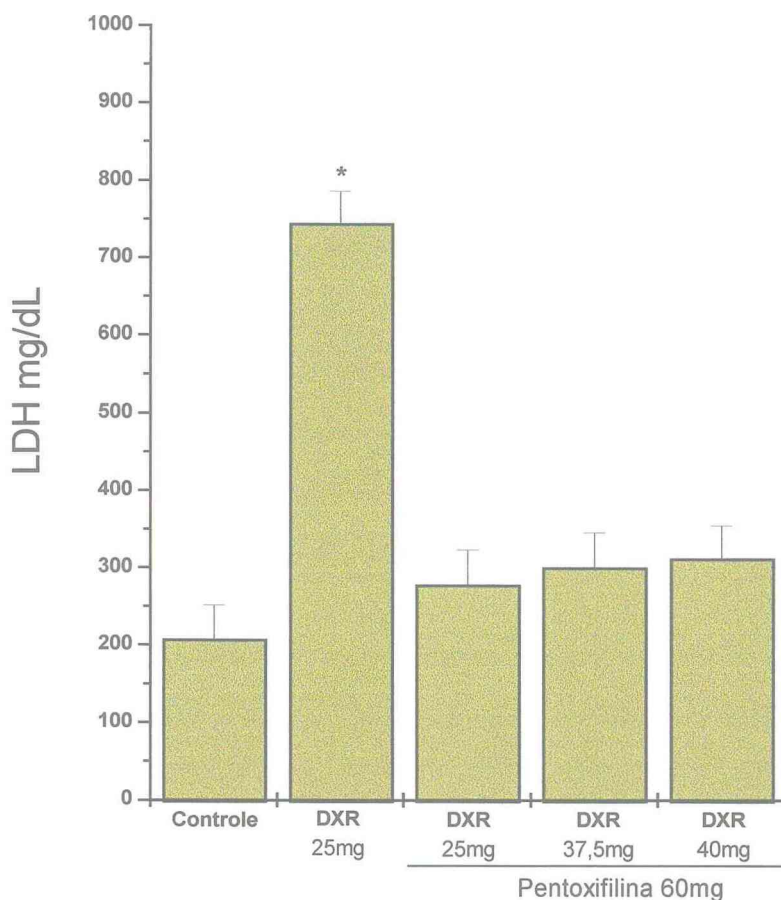


Figura 14. A pentoxifilina previne a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicas: A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais que receberam 25mg/gk foram obtidos na 6^a. semana após o início do tratamento e os do restante na 10^a semana. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.7 A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por doxorubicina em doses excedentes

Observar nos painéis A e B (Figura 15), que os animais do grupo controle têm um ganho ponderal de aproximadamente 20g semanais. Nos animais tratados com doses elevadas de doxorubicina (25mg/Kg/dose total), o que se percebe é uma perda ponderal de em média 12g a partir da 3^a. semana, tornando-se mais acentuada na 4^a. semana e tendendo à elevação a partir da 5^a. semana de tratamento. Nos animais tratados com doses mais elevadas de doxorubicina (25, 37.5 e 40mg/kg/dose total), porém recebendo concomitantemente talidomida (Painel A) ou pentoxifilina (Painel B), a curva ponderal foi muito semelhante a dos animais do grupo controle.

Nos animais tratados apenas com doxorubicina em doses excedentes (37.5 e 40mg/kg) não pudemos avaliar os resultados na curva ponderal, devido o elevado índice de mortalidade, mas nas primeiras semanas as curvas foram muito semelhantes àquelas observadas com doses de doxorubicina de 25mg/kg/dose total.

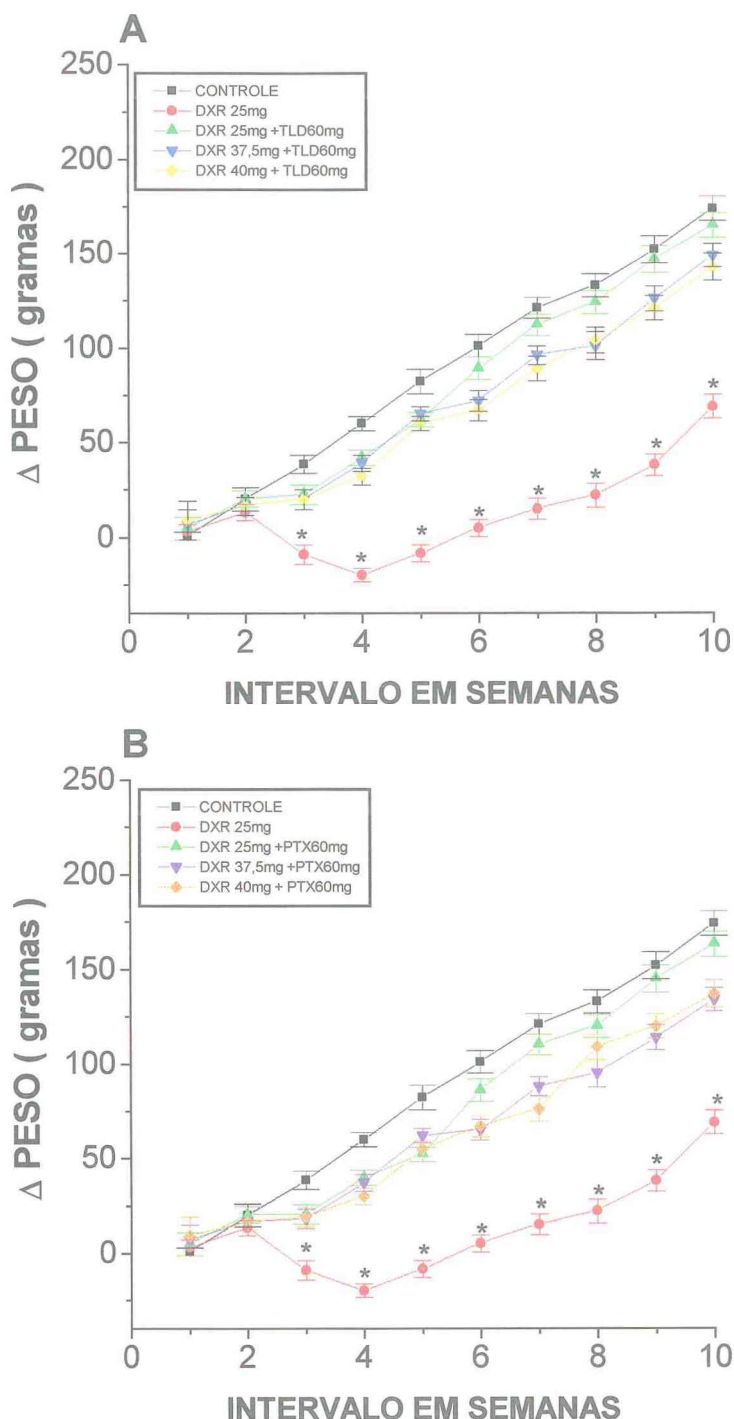


Figura 15. A talidomida (TLD, Painei A) e pentoxifilina (PTX, Painei B) previnem o déficit ponderal induzido por doxorubicina em doses excedentes: A talidomida e pentoxifilina foram administradas por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. Os resultados são expressos como média \pm DP da variação (Δ) de peso, em relação ao peso inicial. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.8 A talidomida e pentoxifilina previnem o aumento dos índices hepático e esplênico induzidos por doxorubicina em doses excedentes

O tratamento com doxorubicina induziu aumento nos índices hepático (Figuras 16 e 17, Painel A) e esplênico (Figuras 16 e 17, Painel B). Nos animais tratados com maiores doses de doxorubicina (25mg/Kg/dose total) houve aumento significativo ($p < 0,05$) no índice hepático. Observar que a média dos índices hepáticos dos animais tratados com salina (grupo controle) foi de 1,82% e médias semelhantes foram observadas nos animais tratados com doxorubicina nas doses de 25, 37.5 e 40mg/Kg/dose total + talidomida (60mg/kg/dia) cujos índices foram 2,45, 2,67 e 2,72, respectivamente (Figura 16). Essas alterações foram semelhantes as encontradas nos animais tratados concomitantemente com doxorubicina e pentoxifilina (Figura 17), cujos valores dos índices foram 2,5, 2,7 e 2,63%, para as doses de 25, 37.5 e 40mg/kg, respectivamente.

Comportamento semelhante observamos quando analisamos o índice esplênico, onde a média dos índices do grupo controle foi 0,89%. A média dos índices esplênicos no grupo tratado com doxorubicina foi significativa no grupo que recebeu a dose cardiotoxica padrão (25mg/Kg/dose total) cuja média foi 1,73%, sendo as médias dos grupos que receberam doxorubicina em doses excedentes (37.5 e 40mg/kg/dose total) 1,12 e 1,16% (tratados com talidomida, Figura 16) e 1,0 e 1,04% (tratados com pentoxifilina, Figura 17), semelhantes as do grupo controle.

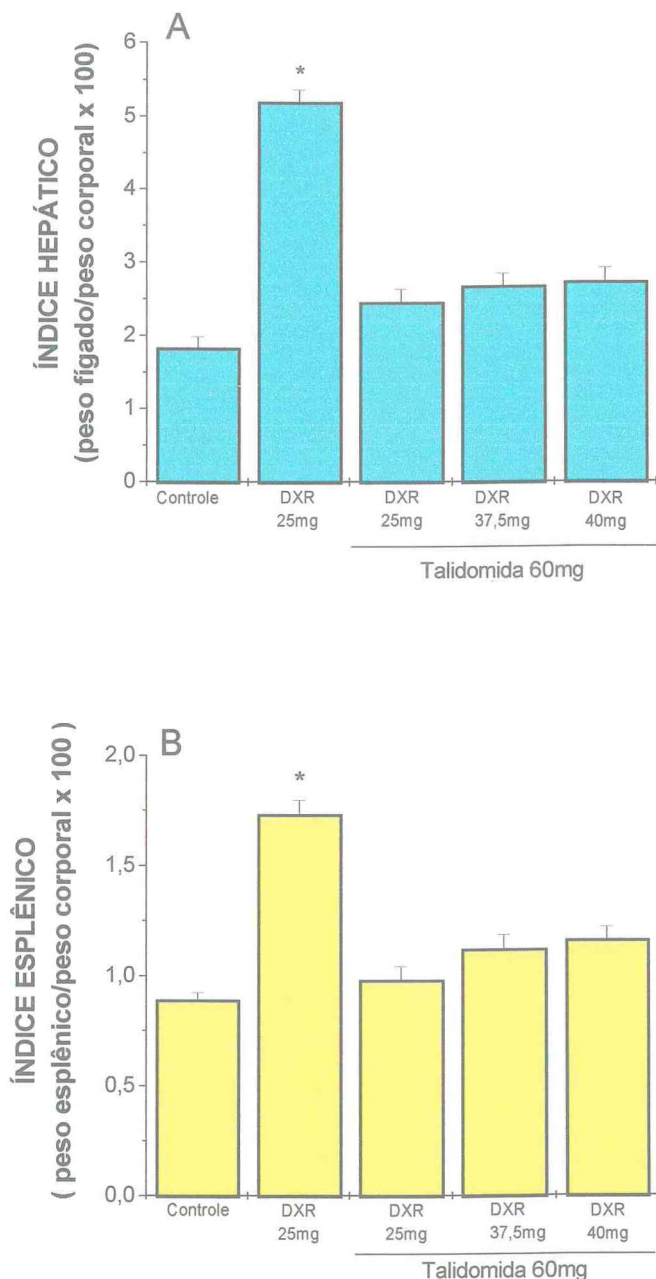


Figura 16. A talidomida previne o aumento dos índices hepático (Painel A) e esplênico (Painel B) induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxica: A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu salina 0,9% (0,5ml; i.p.). Os resultados são expressos como média \pm DP. O número inicial de animais foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao controle; ANOVA-Tukey).

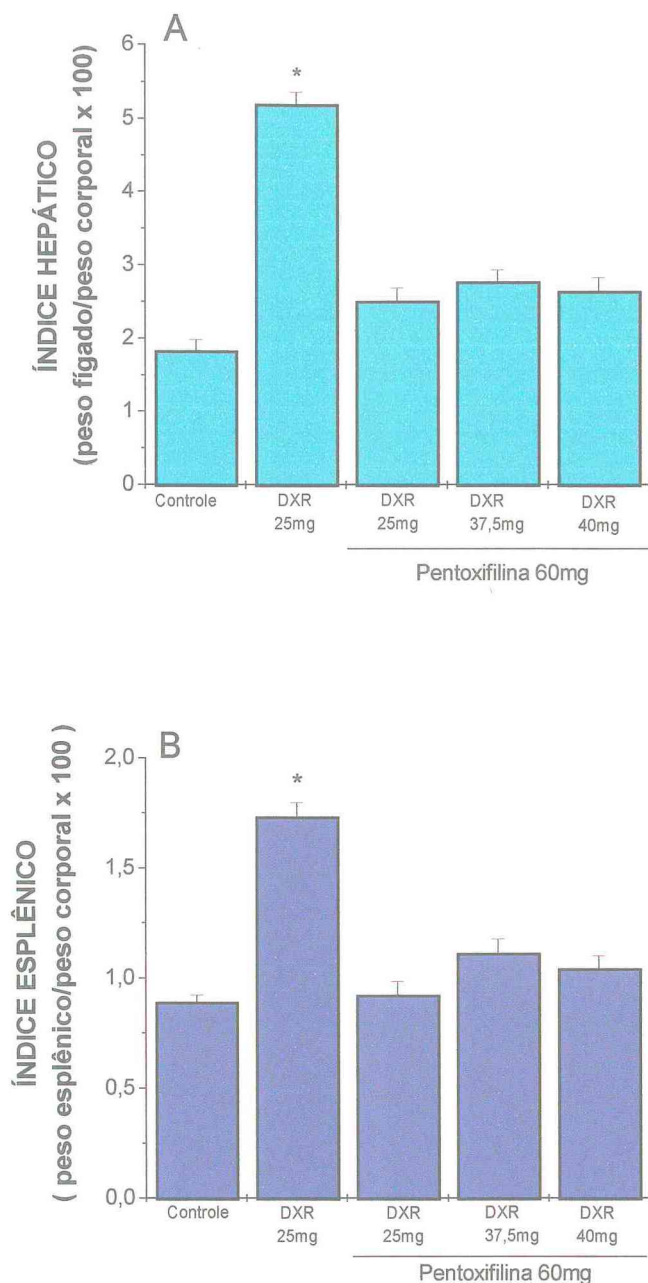


Figura 17. A pentoxifilina previne o aumento dos índices hepático (Painel A) e esplênico (Painel B) induzidos por doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicas: A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas), 37,5mg (~800mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, durante 4 semanas. O grupo controle recebeu salina 0,9% (0,5ml; i.p.). Os resultados são expressos como média ± DP. O número de animais foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao controle; ANOVA-Tukey).

3.9 Perfil da mortalidade animal após tratamento com doxorubicina

O número de animais iniciais para cada grupo foi de 10. Na 2ª semana do início do tratamento 1 animal do grupo controle faleceu de causa indeterminada. No grupo que recebeu doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total, o percentual de mortalidade foi de 60%. Os animais que receberam doses de 37.5 e 40mg/kg ao final do tratamento todos tinham ido a óbito. A principal causa de mortalidade nesses grupos foram: a) toxicidade aguda para o Trato Gastrointestinal (mucosite); b) mielotoxicidade (infecção e plaquetopenia) e c) Insuficiência Cardíaca Congestiva (dispnéia, taquicardia e volumosa ascite).

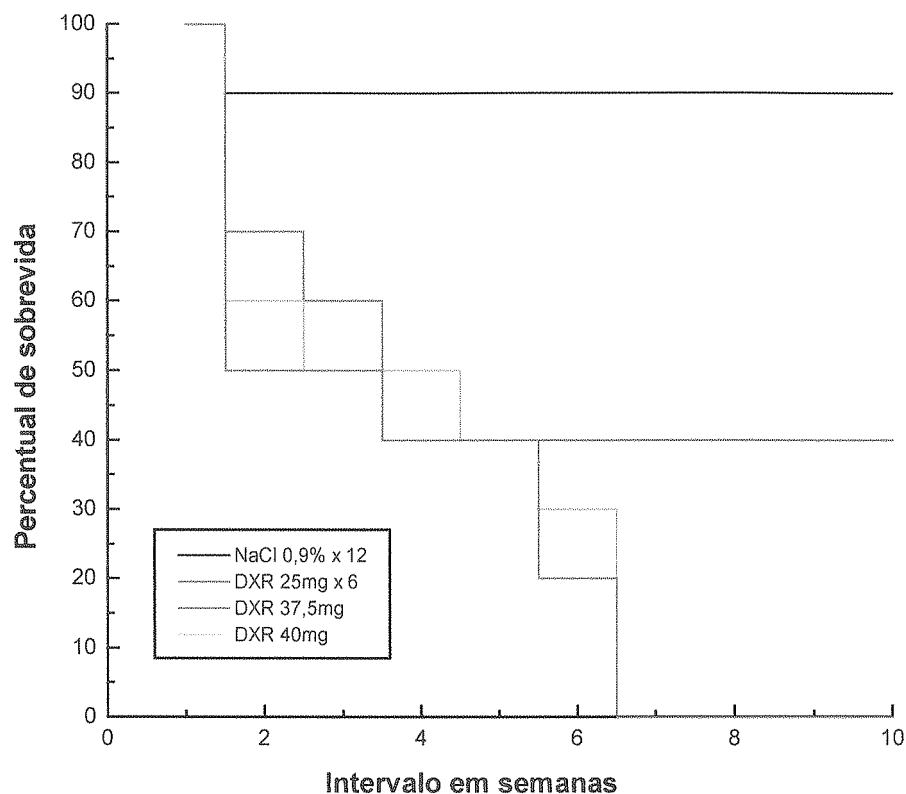


Figura 18. Perfil da mortalidade animal após tratamento com doxorubicina: A doxorubicina foi administrada nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais, com intervalo de 3 dias entre as doses), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações, com o mesmo intervalo entre as doses. O grupo controle recebeu salina 0,9% (0,5ml; i.p.).

3.10 A talidomida e pentoxifilina modificam a mortalidade induzida por doxorubicina em animais tratados com doses excedentes

O número de animais iniciais para cada grupo foi de 10. Na 2ª semana do início do tratamento 1 animal do grupo controle faleceu de causa indeterminada. No grupo que recebeu doxorubicina da dose de 25mg/kg/dose total, o percentual de mortalidade foi de 60%. Nos animais que receberam doses de 37.5 e talidomida (Painel A) o percentual de mortalidade foi de apenas 50% até o final do estudo, sendo de 40% para os animais que receberam pentoxifilina (Painel B). Dos que receberam 40mg/kg + TLD ao final restaram 4 animais (Painel A), semelhante aos que receberam pentoxifilina (Painel B). A principal causa de mortalidade nesses grupos foram: a) toxicidade aguda para o Trato Gastrintestinal (mucosite); b) mielotoxicidade (infecção e plaquetopenia) e c) Insuficiência Cardíaca Congestiva (dispnéia, taquicardia e volumosa ascite).

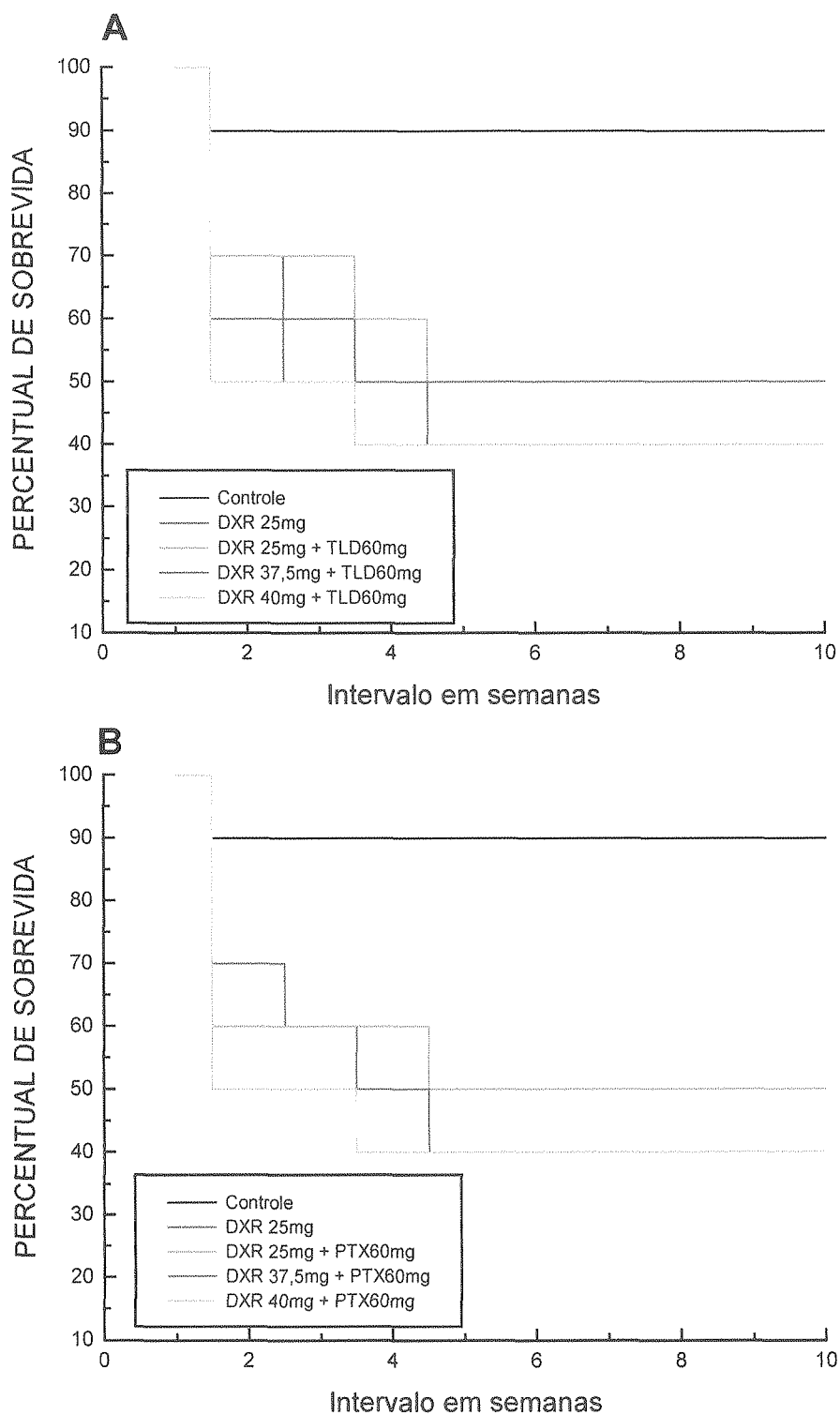


Figura 19. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) modificam a mortalidade induzida por doxorubicina em animados tratados com doses excedentes a dose cardiotoxica: A talidomida e pentoxifilina foram administradas por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a DXR nas doses de 25mg (~600mg/m², fracionada em 6 doses iguais), 37,5mg (~900mg/m²) e 40mg (~1000mg/m²)/Kg/dose total por via i.p., respectivamente divididas em 12 aplicações. O grupo controle recebeu salina 0,9% (0,5ml; i.p.).

3.11 Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

Observar que no eletrocardiograma dos animais tratados com talidomida e pentoxifilina (Figuras 20, 21, 22), semelhante ao grupo controle, não existem alterações dos segmentos PR e QT, alterações na voltagem ou arritmias, nas derivações analisadas (D2 e V1). Esses achados foram comuns a todos os animais destes grupos.

Observar o alargamento do segmento QT e baixa voltagem do QRS, nos animais tratados apenas com epirubicina (Figura 20), idarubicina (Figura 21) e mitoxantrona (Figura 22).

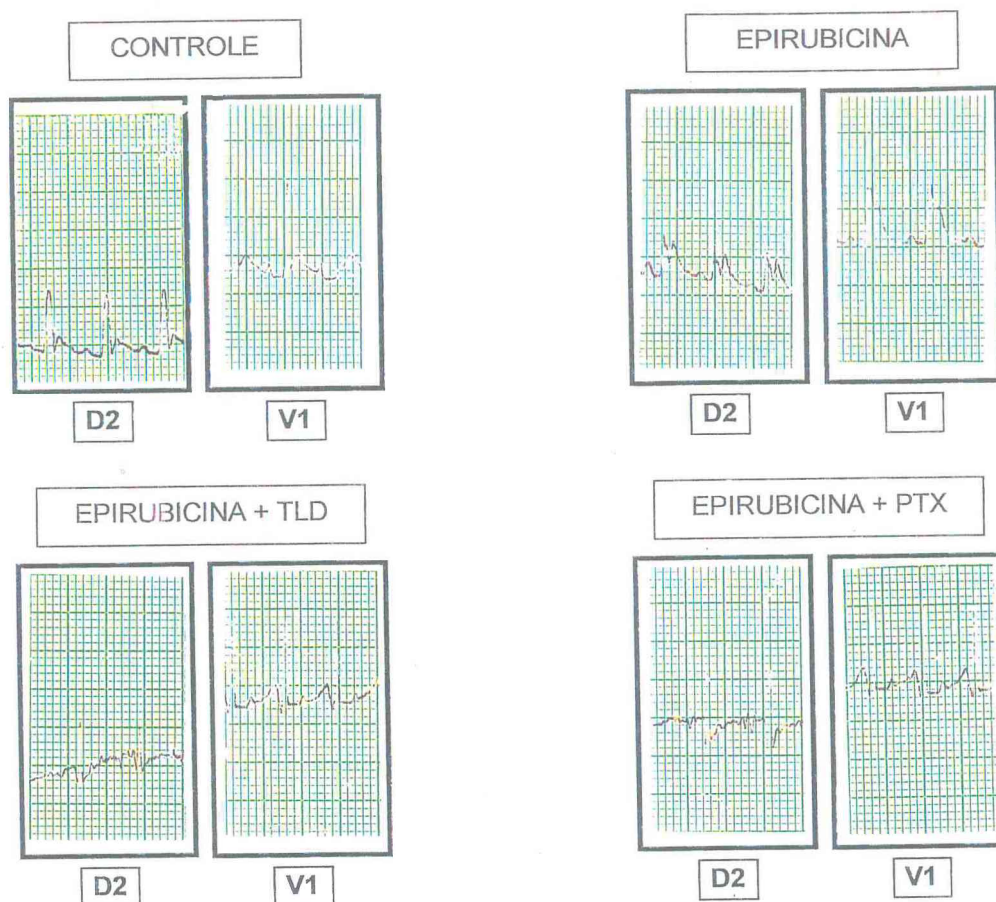


Figura 20. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com epirubicina : Observar que no traçado eletrocardiográfico representativo dos animais tratados com epirubicina + talidomida ou pentoxifilina, semelhante ao controle não há redução na amplitude do complexo QRS ou prolongamento do segmento QT, quando comparado ao ECG do animal tratado apenas com epirubicina, onde se percebe nítida redução na voltagem e alargamento do segmento QT. Não foram observadas arritmias ou alterações do segmento PR em todos os traçados.

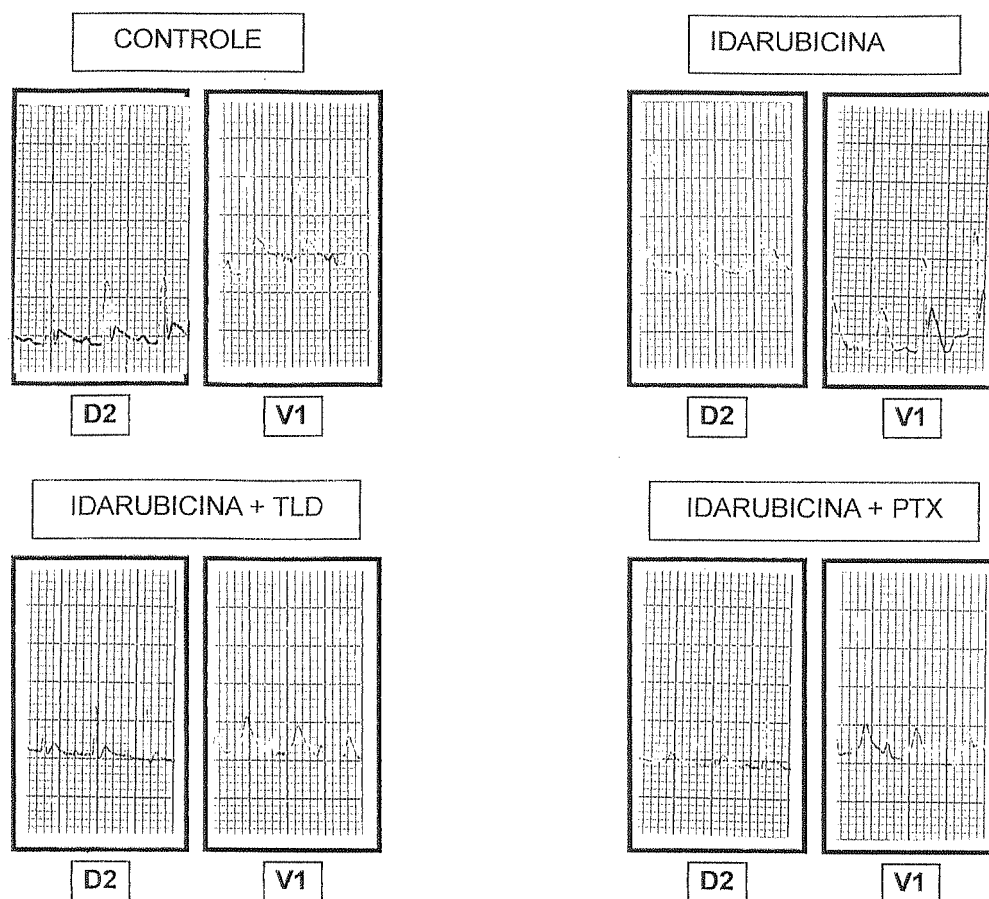


Figura 21. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com idarubicina: Observar que no traçado eletrocardiográfico representativo dos animais tratados com idarubicina + talidomida ou pentoxifilina, semelhante ao controle não há redução na amplitude do complexo QRS ou prolongamento do segmento QT, quando comparado ao ECG do animal tratado apenas com idarubicina, onde se percebe nítida redução na voltagem e alargamento do segmento QT. Não foram observadas arritmias ou alterações do segmento PR em todos os traçados.

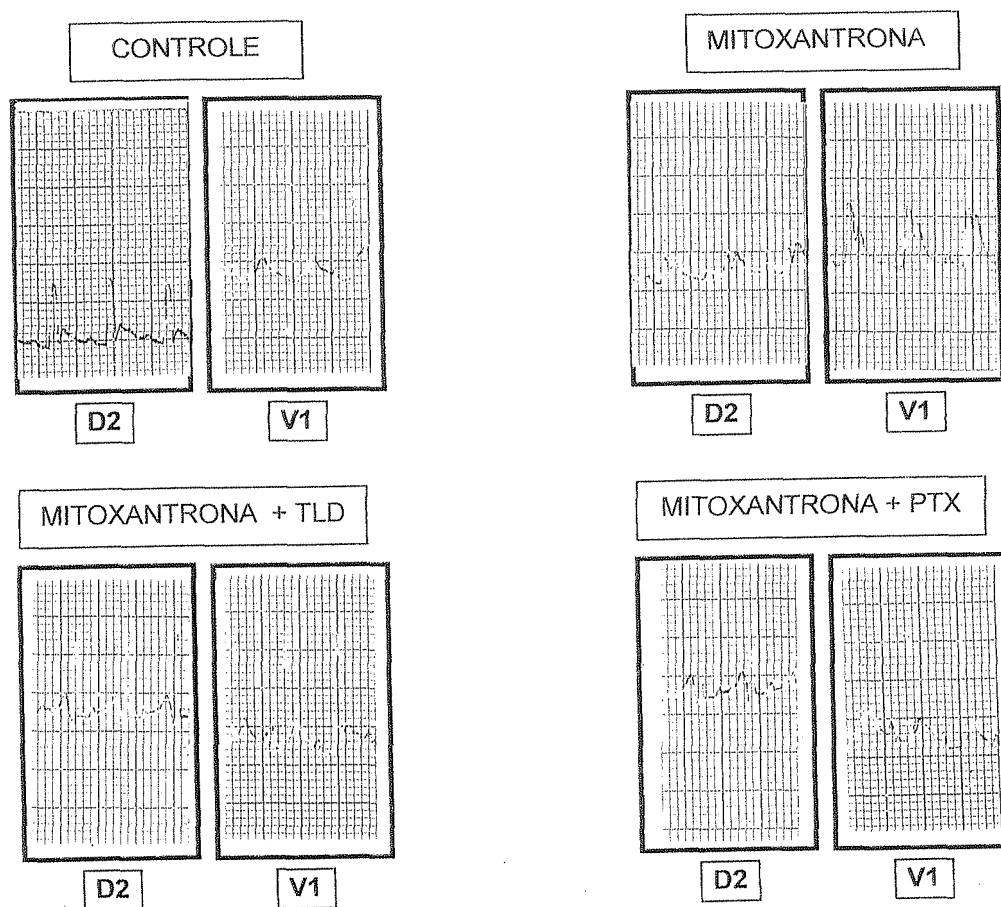


Figura 22. Traçados eletrocardiográficos dos animais tratados com mitoxantrona: Observar que no traçado eletrocardiográfico representativo dos animais tratados com mitoxantrona + talidomida ou pentoxifilina, semelhante ao controle não há redução na amplitude do complexo QRS ou prolongamento do segmento QT, quando comparado ao ECG do animal tratado apenas com mitoxantrona, onde se percebe nítida redução na voltagem e alargamento do segmento QT. Não foram observadas arritmias ou alterações do segmento PR em todos os traçados.

3.12 Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por epirubicina em comparação com doxorubicina

Nos animais tratados com doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total, houve alteração estatisticamente significativa ($p < 0.05$) no segmento QTc, que passou a medir 38ms, em relação ao controle (20ms), o mesmo foi observado nos animais tratados com epirubicina na dose de 50mg/kg. A média da voltagem do complexo QRS aferida nos animais que receberam doxorubicina e epirubicina, nas doses acima citadas foram de 0.6mV e 0.8mV, respectivamente.

Nos animais que receberam doses mais baixas de epirubicina, semelhante ao controle, não foram observadas alterações eletrocardiográficas. (Tabela 3).

Tabela 3. Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por epirubicina em comparação com a doxorubicina (Média \pm Desvio Padrão)

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Eletrocardiograma	
			QTc (mS)	QRS (mV)
NaCl 0,9% x 6	10	-	20 \pm 1.3	1,0 \pm 0.06
DXR 4,1mg/kg x 6	5	25mg/kg	38 \pm 1.2*	0,6 \pm 0.06*
EPI 4,1mg/kg x 6	6	25mg/kg	20 \pm 1.4	1,0 \pm 0.03
EPI 8,3mg/kg x 6	7	50mg/kg	35 \pm 1.3*	0,8 \pm 0.03 ^{NS}

A dose total de DXR foi de 25mg/kg e as doses de EPI foram de 25 e 50 mg/Kg, dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5^a. semana após o início do tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

NS = não significativo estatisticamente.

3.13 Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por idarubicina em comparação com doxorubicina

Nos animais tratados com doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total, houve alteração estatisticamente significativa ($p < 0.05$) no segmento QTc, que passou a durar 38ms, e na voltagem do complexo QRS, que passou a medir 0,6mV, quando comparados ao controle cujas medidas foram 20ms e 1,0 mV, respectivamente. Nos animais que receberam idarubicina na dose de 10mg/kg/dose total, não foram observadas alterações eletrocardiográficas.

Os animais que receberam idarubicina da dose de 20mg/kg, houve redução na voltagem do QRS, que mediu 0,8mV e um alargamento do segmento QT (29ms), no entanto ambas as alterações não foram estatisticamente significativas.

(Tabela 4)

Tabela 4. Alterações no traçado eletrocardiográfico induzido por doses cardiotoxicas de idarubicina em comparação com a doxorubicina (Média \pm Desvio Padrão)

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Eletrocardiograma	
			QTc (mS)	QRS (mV)
NaCl 0,9% x 6	10	-	20 \pm 1.3	1,0 \pm 0.6
DXR 4mg/kg x 6	5	25mg/kg	38 \pm 1.2*	0,6 \pm 0.06*
IDA 1,6mg/kg x 6	7	10mg/kg	20 \pm 1.1	1,0 \pm 0.06
IDA 3,3mg/kg x 6	7	20mg/kg	29 \pm 1.3 ^{NS}	0,8 \pm 0.03 ^{NS}

As dose total de DXR foi de 25mg/kg e as doses de IDA foram de 10 e 20 mg/Kg, dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5ª semana após o início do tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey). **NS = não significativo estatisticamente.**

3.14 Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por mitoxantrona em comparação com doxorubicina

Nos animais tratados com doxorubicina na dose de 25mg/kg/dose total, houve alteração estatisticamente significativa ($p < 0.05$) no segmento QTc, que passou a medir 38ms, em relação ao controle (20ms), semelhante ao observado nos animais tratados com mitoxantrona na dose de 8mg/kg, cujo valor foi 34ms. A média da voltagem do complexo QRS aferida nos animais que receberam doxorubicina e mitoxantrona, nas doses acima citadas foram de 0.6mV e 0.8mV, respectivamente. Nesta redução da voltagem quando comparados ambos os grupos, ao controle, apenas a redução observada no grupo da doxorubicina foi significativa.

Nos animais que receberam doses mais baixas de mitoxantrona, semelhante ao controle, não foram observadas alterações eletrocardiográficas. (Tabela 5)

Tabela 5. Alterações no traçado eletrocardiográfico induzidas por doses cardiotoxícas de mitoxantrona em comparação com doxorubicina (Média \pm Desvio Padrão)

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Eletrocardiograma	
			QTc (mS)	QRS (mV)
NaCl 0,9% x 6	10	-	20 \pm 1.3	1,0 \pm 0.6
DXR 4mg/kg x 6	5	25mg/kg	38 \pm 1.2*	0,6 \pm 0.06*
MIT 0,6mg/kg x 6	7	4mg/kg	20 \pm 1.2	1.0 \pm 0.02*
MIT 1,3mg/kg x 6	7	8mg/kg	0,34 \pm 1.4*	0,8 \pm 0.06 ^{NS}

As dose total de DXR foi de 25mg/kg e as doses de MIT foram de 4 e 8 mg/Kg, dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5a. semana após o início do tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

NS = não significativo estatisticamente.

3.15 Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre os parâmetros eletrocardiográficos comparando análogos antracíclicos vs doxorubicina

O tratamento com talidomida (Tabela 6) e pentoxifilina (Tabela 7) previne significativamente ($p < 0.05$) as alterações no segmento QT e na voltagem do QRS, induzidas por doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.

Observar em ambas as tabelas, que a duração do segmento QT, corrigido pela voltagem (QTc) nos animais do grupo controle foi em média 20ms e a voltagem do complexo QRS foi de 1,0mV. Nos animais tratados apenas com doxorubicina, epi, ida e mitoxantrona, houve alargamento do intervalo QTc, só que este aumento só foi estatisticamente significativo além da doxo, nos grupos da epi e mitoxantrona. Reduções significativas na amplitude do complexo QRS, só foram observadas nos animais tratados com doxorubicina. Naqueles tratados com epi, ida e mitoxantrona as reduções de amplitude, embora presentes, não tiveram significado estatístico.

Tabela 6. Efeito do tratamento com talidomida (TLD) sobre os parâmetros eletrocardiográficos comparando análogos antracíclicos vs doxorubicina.

GRUPOS	Nº. de animais	Eletrocardiograma	
		QTc (mS)	QRS (mV)
Controle (NaCl 0,9%)	10	20 ± 0.13	1.0 ± 0.06
DXR	5	38 ± 0.12*	0.6 ± 0.06*
DXR + TLD	10	20 ± 0.14	1.0 ± 0.05
EPI	6	35 ± 0.13*	0.8 ± 0.03
EPI + TLD	8	22 ± 0.13	1.0 ± 0.03
IDA	7	29 ± 0.15 ^{NS}	0.8 ± 0.06
IDA + TLD	7	20 ± 0.13	1.0 ± 0.04
MIT	6	34 ± 0.11*	0.8 ± 0.02
MIT + TLD	8	20 ± 0.12	1.0 ± 0.05

A talidomida foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia. As doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0 mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos dos animais foram obtidos na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) p < 0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

Tabela 7. Efeito do tratamento com pentoxifilina (PTX) sobre os parâmetros eletrocardiográficos comparando análogos antracíclicos vs doxorubicina.

GRUPOS	Nº. de animais	Eletrocardiograma	
		QTc (mS)	QRS (mV)
Controle (NaCl 0,9%)	10	20 ± 0.13	1.0 ± 0.06
DXR	5	38 ± 0.12*	0.6 ± 0.06*
DXR + PTX	10	20 ± 0.14	1.0 ± 0.05
EPI	6	35 ± 0.13*	0.8 ± 0.03
EPI + PTX	7	22 ± 0.16	1.0 ± 0.06
IDA	7	29 ± 0.15 ^{NS}	0.8 ± 0.06
IDA + PTX	7	20 ± 0.15	1.0 ± 0.02
MIT	6	34 ± 0.11*	0.8 ± 0.02
MIT + PTX	8	20 ± 0.14	1.0 ± 0.07

A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia. As doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0 mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos dos animais foram obtidos na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) p < 0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.16 Parâmetros ecocardiográficos dos animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

O cálculo da fração de encurtamento ($\% \Delta D$) foi obtido através de corte paraesternal transverso no Modo-M. Observar que houve redução da fração de encurtamento, de forma significativa em todos os grupos tratados com antracíclico. Estas reduções significam um perda funcional entre 18 a 45% da capacidade de ejeção do ventrículo esquerdo na sístole. Esta alteração foi mais acentuada no grupo que recebeu doxorubicina.

Tabela 8. Alterações nos parâmetros ecocardiográficos comparando análogos antracíclicos vs doxorubicina. (Média \pm DP)

Tratamento	No. de animais	Dose cumulativa mg/kg	Dose de Talidomida mg/kg	ECO (% Δ D)
NaCl 0,9% x 6	4	-	-	69.5 + 3.2
DXR 4mg/kg x 6	4	25,0	30	38.25 + 1.9*
EPI 8,3mg/kg x 6	3	50,0	30	41.5 + 3.1*
IDA 3,3mg/kg x 6	3	20,0	30	56.7 + 3.4
MIT 1,3mg/kg x 6	3	8,0	30	49.3 + 3.2*

As doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0 mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os registros ecocardiográficos transtorácicos foram obtidos pelo Modo-M com sonda de 7.5MHz na 5^a semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.17 A talidomida e pentoxifilina previnem as alterações na fração de encurtamento do VE (% Δ D) induzidas por doxorubicina e análogos antracíclicos

O tratamento com talidomida (Tabela 9) e pentoxifilina (Tabela 10) previne as alterações na fração de encurtamento do VE, em todos os animais observados. O % Δ D destes grupos foram > 60%. Nos animais controle o % Δ D foi em média 69,5% e nos animais tratados com doxorubicina (25mg/Kg/dose total) as reduções na fração de encurtamento foram significativas ($p < 0.05$) e o % Δ D mediu em média 38,5%.

Tabela 9. Efeito do tratamento com talidomida (TLD) sobre os parâmetros ecocardiográficos comparando os análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Grupos	Nº. de animais	Ecocardiograma (% Δ D)
Controle (NaCl 0,9%)	10	69.5 \pm 3.2
DXR	5	38.2 \pm 1.9*
DXR + TLD	10	67.0 \pm 3.5
EPI	6	41.5 \pm 3.1*
EPI + TLD	8	69.7 \pm 3.6
IDA	7	54.3 \pm 3.4
IDA + TLD	7	61.7 \pm 2.9
MIT	7	49.3 \pm 3.2*
MIT + TLD	8	68.9 \pm 2.9

A talidomida foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0 mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os registros ecocardiográficos transtorácicos foram obtidos pelo Modo-M com sonda de 7.5mHz na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

Tabela 10. Efeito do tratamento com pentoxifilina (PTX) sobre os parâmetros ecocardiográficos comparando os análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Grupos	Nº. de animais	Ecocardiograma (% Δ D)
Controle (NaCl 0,9%)	10	69.5 \pm 3.2
DXR	5	38.2 \pm 1.9*
DXR + PTX	10	68.2 \pm 3.6
EPI	6	41.5 \pm 3.1*
EPI + PTX	7	67.4 \pm 2.6
IDA	7	54.3 \pm 3.4
IDA + PTX	7	64.3 \pm 3.4
MIT	6	49.3 \pm 3.2*
MIT + PTX	8	67.9 \pm 3.3

A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os registros ecocardiográficos transtorácicos foram obtidos pelo Modo-M com sonda de 7.5mHz na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.18 Alterações nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

Observar que o tratamento com epirubicina (Figura 23), idarubicina (Figura 24) e mitoxantrona (Figura 25), semelhante ao tratamento com doxorubicina, elevam os níveis séricos de troponina, quando comparados ao grupo controle e estes permanecem elevados até o final do tratamento.

As médias dos valores obtidos são representadas na tabela abaixo:

- Tabela 11. Níveis séricos de troponina T em animais tratados com doxorubicina, epirubicina e mitoxantrona

GRUPOS	Semanas de tratamento / níveis séricos de TnT			
	0	2	4	6
Controle	0,01 ng/ml	0,1 ng/ml	0,1 ng/ml	0,12 ng/ml
Doxorubicina	0 ng/ml	0,38 ng/ml	0,38 ng/ml	0,38 ng/ml
Epirubicina	0,1 ng/ml	0,29 ng/ml	0,34 ng/ml	0,37 ng/ml
Idarubicina	0,06 ng/ml	0,30 ng/ml	0,32 ng/ml	0,37 ng/ml
Mitoxantrona	0,07 ng/ml	0,34 ng/ml	0,36 ng/ml	0,28 ng/ml

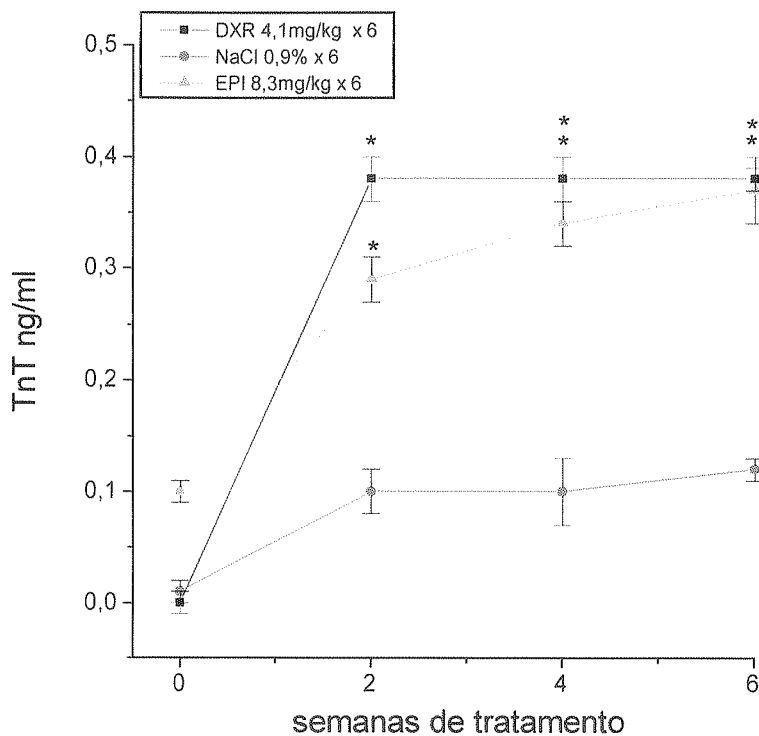


Figura 23. Alterações nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por epirubicina : A epirubicina foi administrada na dose de 50mg/Kg/dose total ($\sim 1200\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

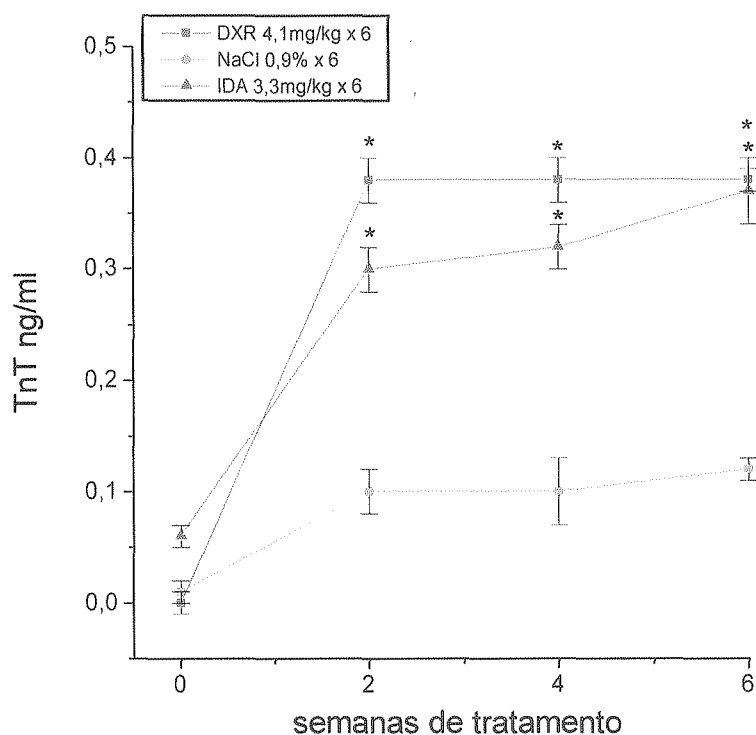


Figura 24. Alterações nos níveis séricos de Troponina T induzidos por idarubicina : A idarubicina foi administrada na dose de 20mg/Kg/dose total (~480mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

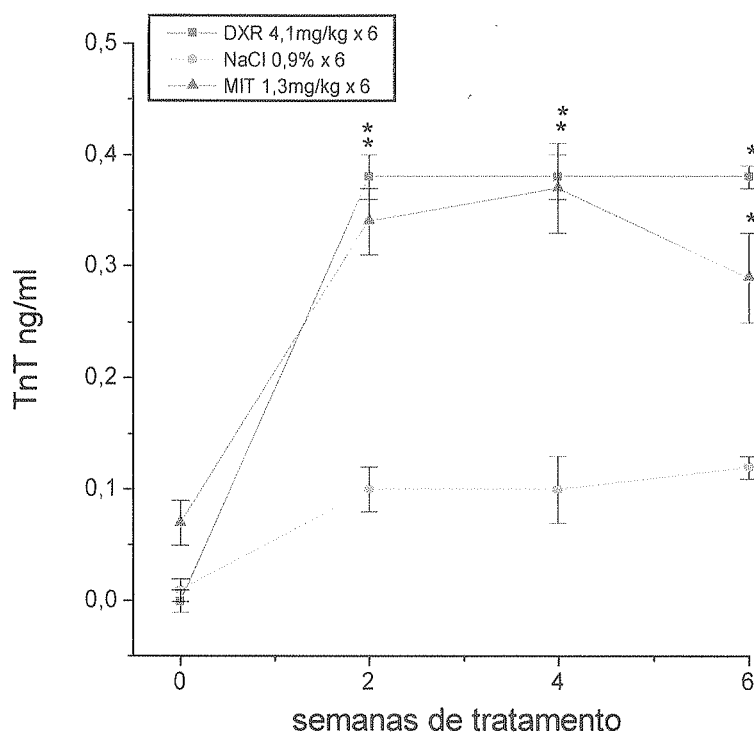


Figura 25. Alterações nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por mitoxantrona : A mitoxantrona foi administrada na dose de 8mg/Kg/dose total ($\sim 192\text{mg}/\text{m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.19 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por epirubicina (Figura 24), idarubicina (Figura 26) e mitoxantrona (Figura 27).

Observar que a administração de talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) concomitantemente ao tratamento com epirubicina (Figura 26), idarubicina (Figura 27) e mitoxantrona (Figura 28), previnem a elevação dos níveis séricos de troponina, quando comparados ao grupo tratado apenas com doxorubicina.

As médias dos valores obtidos são representadas na tabela abaixo:

- **Tabela 12. Níveis séricos de troponina T em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona + talidomida e pentoxifilina:**

GRUPOS	Semanas de tratamento / níveis séricos de troponina T			
	0	2	4	6
Controle	0,01 ng/ml	0,1 ng/ml	0,1 ng/ml	0,12 ng/ml
Doxorubicina	0 ng/ml	0,38 ng/ml	0,38 ng/ml	0,38 ng/ml
Epirubicina	0,1 ng/ml	0,29 ng/ml	0,34 ng/ml	0,37 ng/ml
EPI + TLD	0,14 ng/ml	0,17 ng/ml	0,19 ng/ml	0,16 ng/ml
EPI + PTX	0,14 ng/ml	0,19 ng/ml	0,16 ng/ml	0,15 ng/ml
Idarubicina	0,06 ng/ml	0,30 ng/ml	0,32 ng/ml	0,37 ng/ml
IDA + TLD	0,14 ng/ml	0,17 ng/ml	0,16 ng/ml	0,16 ng/ml
IDA + PTX	0,12 ng/ml	0,16 ng/ml	0,15 ng/ml	0,19 ng/ml
Mitoxantrona	0,07 ng/ml	0,34 ng/ml	0,36 ng/ml	0,28 ng/ml
MIT + TLD	0,14 ng/ml	0,17 ng/ml	0,15 ng/ml	0,14ng/ml
MIT + PTX	0,13 ng/ml	0,16 ng/ml	0,18 ng/ml	0,17 ng/ml

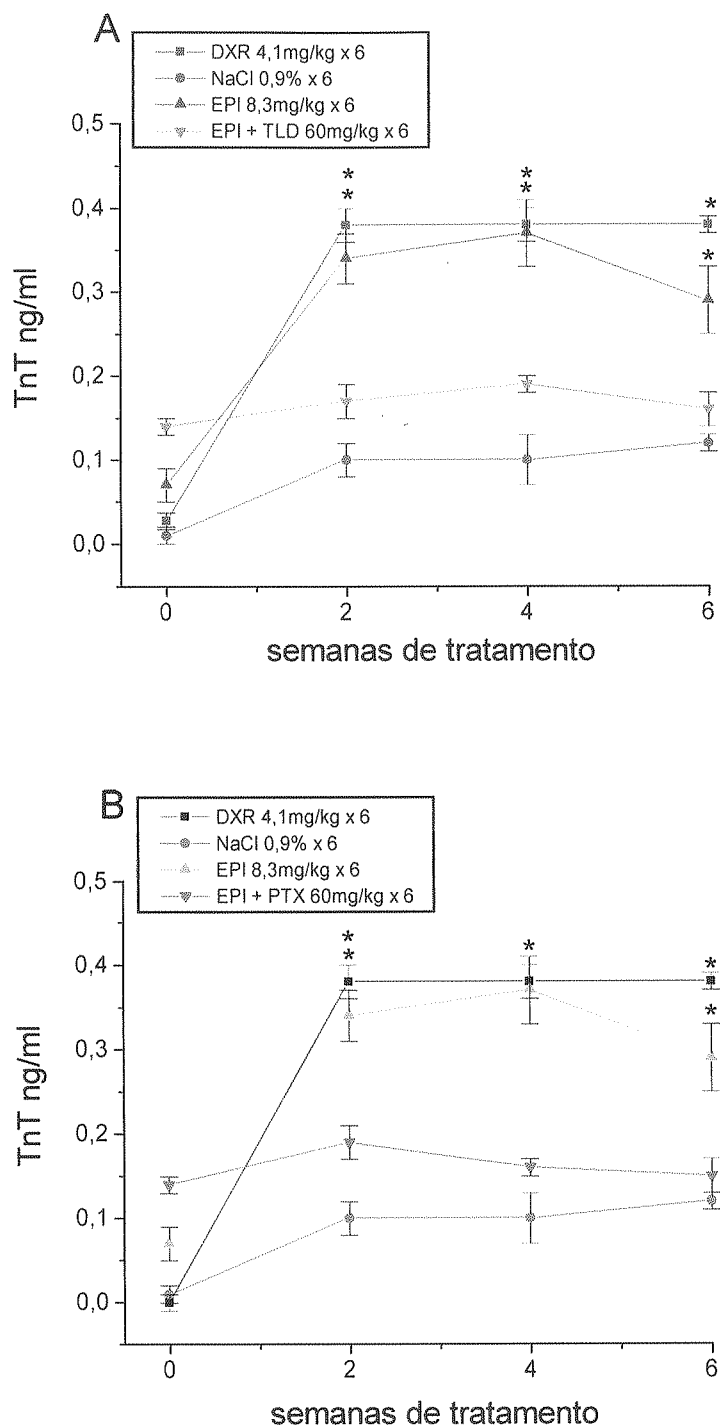


Figura 26. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por epirubicina : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a epirubicina foi administrada na dose de 50mg/Kg/dose total (~1200mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

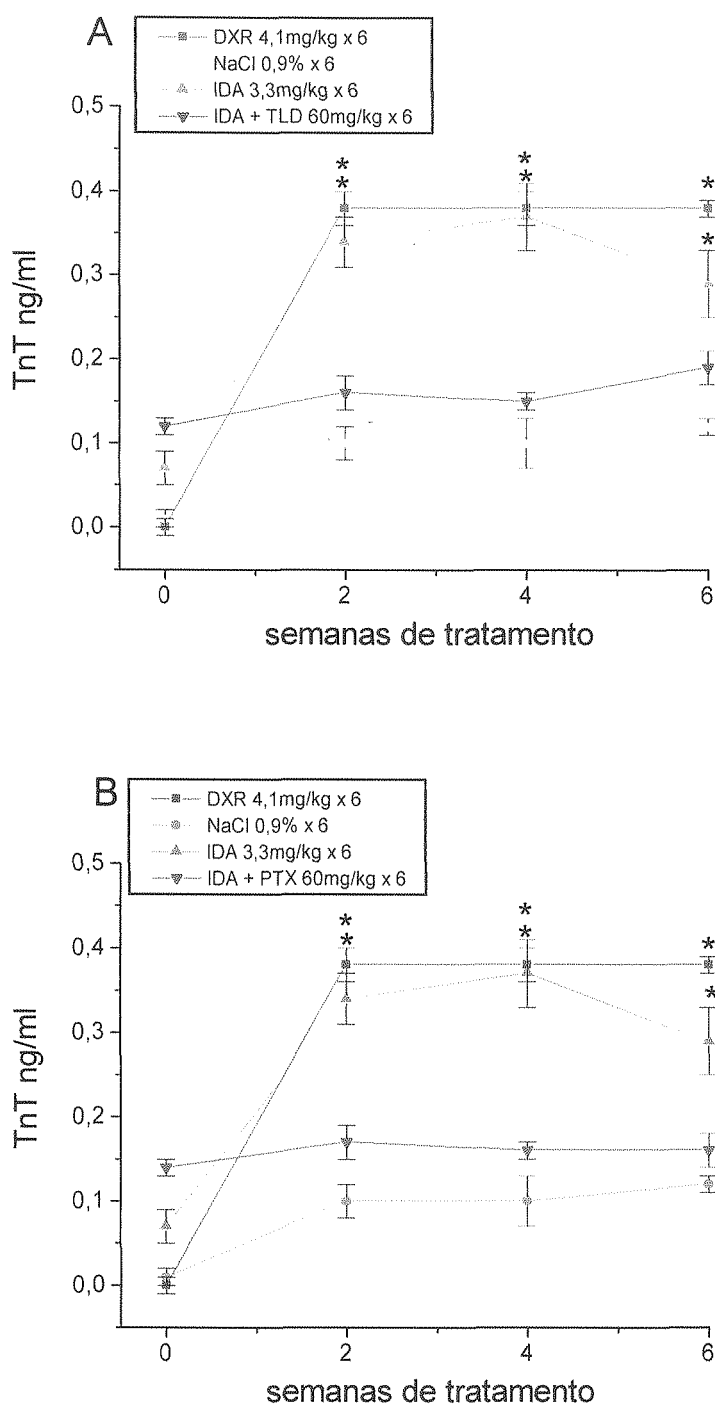


Figura 27. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por idarubicina : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a idarubicina foi administrada na dose de 20mg/Kg/dose total (~480mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

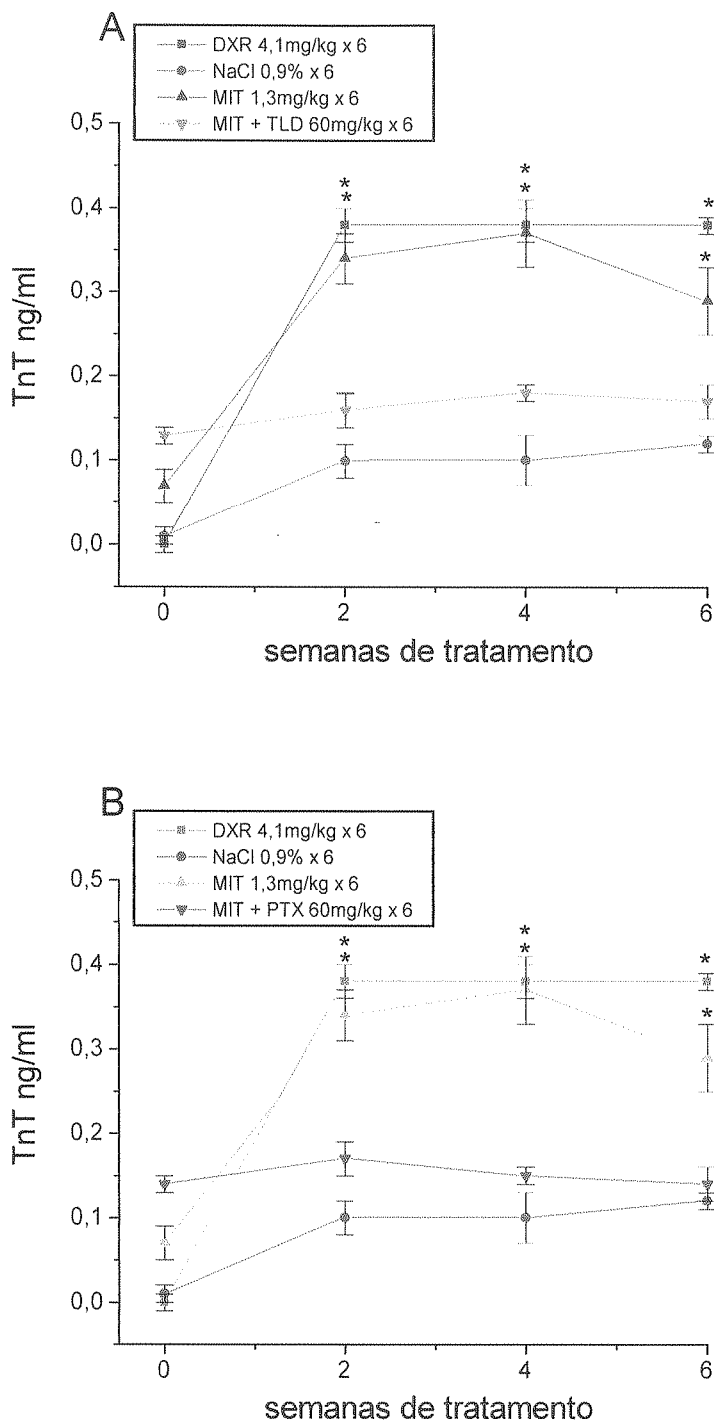


Figura 28. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de Troponina T (TnT) induzidos por mitoxantrona : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a mitoxantrona foi administrada na dose de 8mg/Kg/dose total (~192mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de TnT dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.20 Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

Observar que o tratamento com epirubicina (Figura 29), idarubicina (Figura 30) e mitoxantrona (Figura 31), semelhante ao tratamento com doxorubicina, elevam os níveis séricos de CK-MB, quando comparados ao grupo controle. Estes níveis permanecem elevados até o final da administração das medicações e retornam a valores próximos aos normais 2 semanas após o término do tratamento.

As médias dos valores obtidos são representadas na tabela abaixo:

- **Tabela 13. Níveis séricos de CK-MB em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona:**

GRUPOS	Semanas de tratamento / níveis séricos de CK-MB			
	0	2	4	6
Controle	10 U/L	12 U/L	12 U/L	13 U/L
Doxorubicina	10 U/L	76 U/L	78 U/L	25 U/L
Epirubicina	14 U/L	74 U/L	62 U/L	22 U/L
Idarubicina	11 U/L	70 U/L	57 U/L	19 U/L
Mitoxantrona	14 U/L	72 U/L	60 U/L	20 U/L

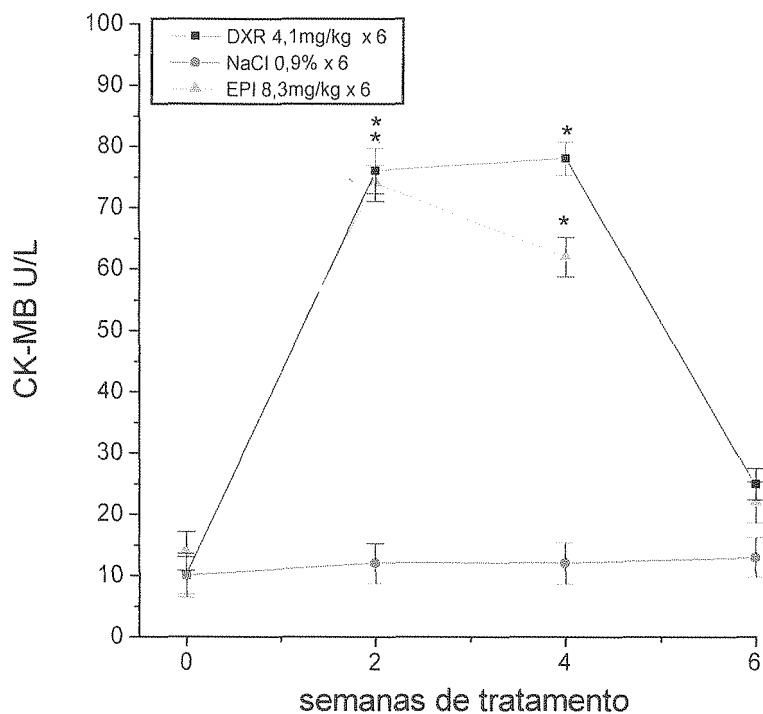


Figura 29. Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina : A epirubicina foi administrada na dose de 50mg/Kg/dose total ($\sim 1200\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

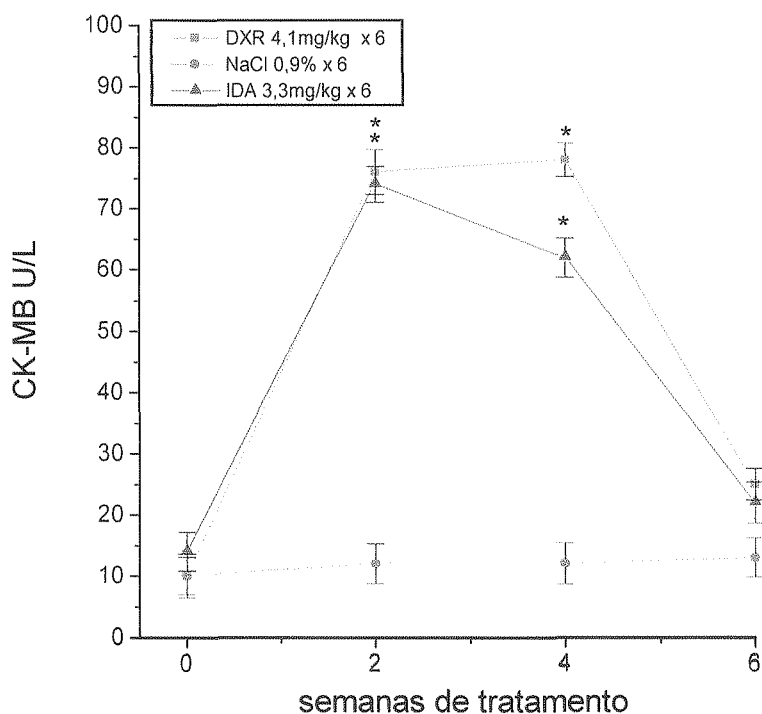


Figura 30. Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por idarubicina : A idarubicina foi administrada na dose de 20mg/Kg/dose total ($\sim 480\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

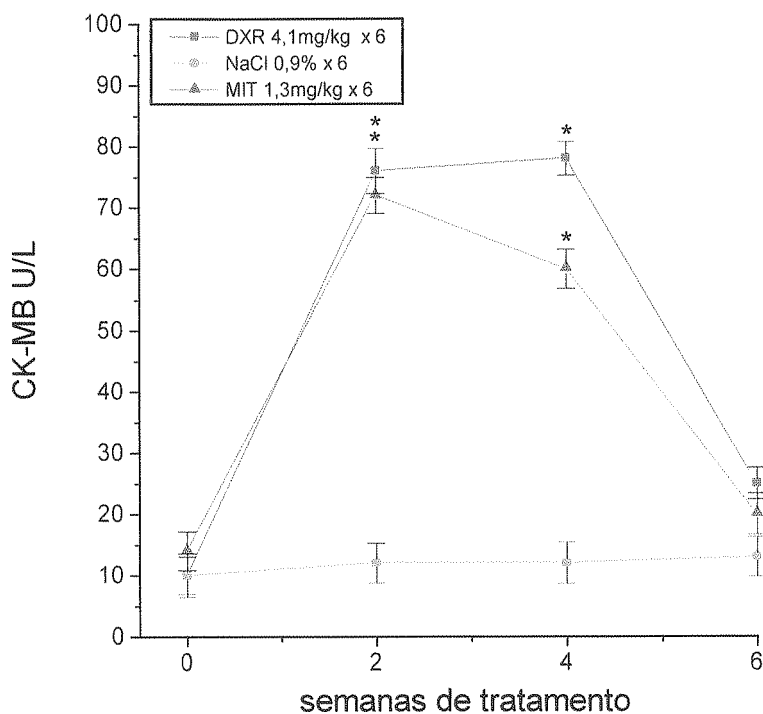


Figura 31. Alterações nos níveis séricos de CK-MB induzidos por mitoxantrona : A mitoxantrona foi administrada na dose de 8mg/Kg/dose total ($\sim 192\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.21 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina (Figura 32), idarubicina (Figura 33) e mitoxantrona (Figura 34).

Observar que a administração de talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) concomitantemente ao tratamento com epirubicina (Figura 31), idarubicina (Figura 32) e mitoxantrona (Figura 33), previnem a elevação dos níveis séricos de CK-MB, quando comparados ao grupo tratado apenas com doxorubicina.

As médias dos valores obtidos são representadas abaixo:

- **Tabela 14. Níveis séricos de CK-MB em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona + talidomida e pentoxifilina**

GRUPOS	Semanas de tratamento / níveis séricos de CK-MB			
	0	2	4	6
Controle	10 U/L	12 U/L	12 U/L	13 U/L
Doxorubicina	10 U/L	76 U/L	78 U/L	25 U/L
Epirubicina	14 U/L	74 U/L	62 U/L	22 U/L
EPI + TLD	14 U/L	22 U/L	28 U/L	15 U/L
EPI + PTX	16 U/L	25 U/L	31 U/L	12 U/L
Idarubicina	11 U/L	70 U/L	57 U/L	19 U/L
IDA + TLD	14U/L	24 U/L	30 U/L	16 U/L
IDA + PTX	15 U/L	25 U/L	32 U/L	17 U/L
Mitoxantrona	14 U/L	72 U/L	60 U/L	20 U/L
MIT + TLD	16U/L	27 U/L	23 U/L	13 U/L
MIT + PTX	14 U/L	26 U/L	32 U/L	15 U/L

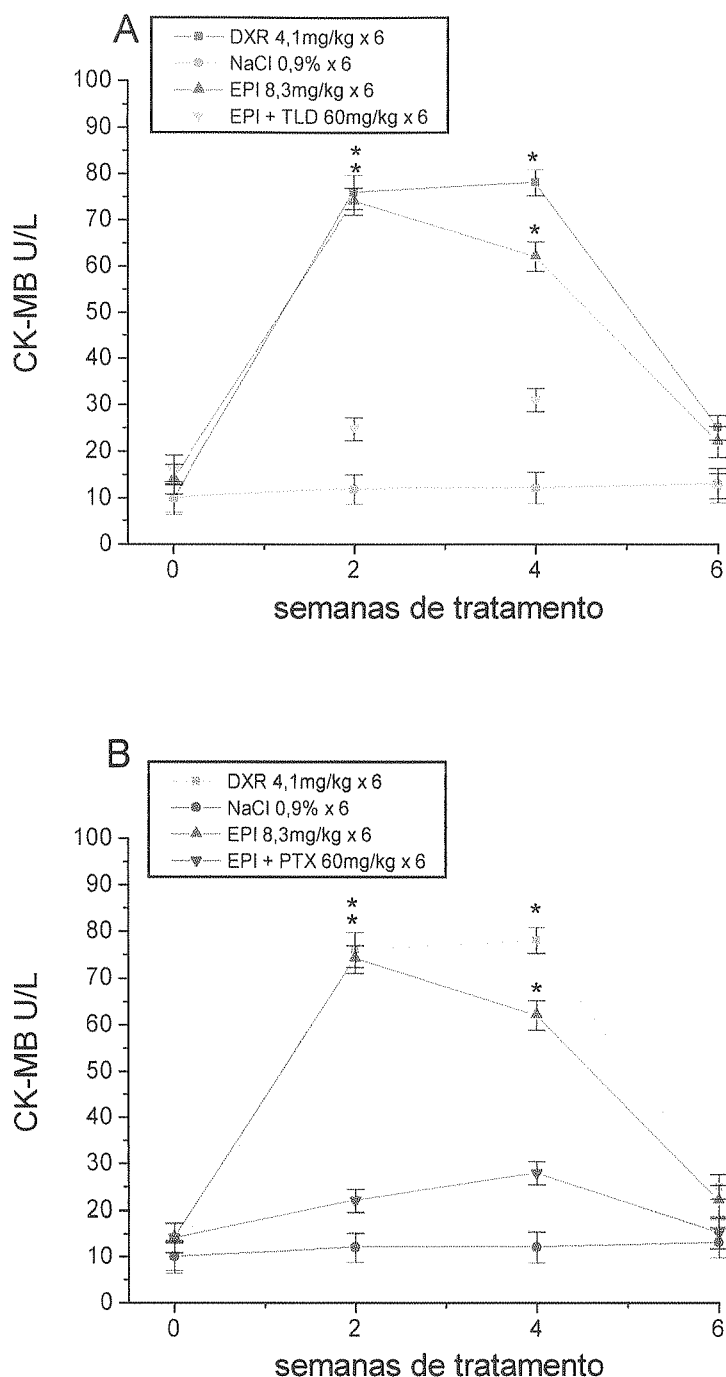


Figura 32. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de CK-MB induzidos por epirubicina : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a epirubicina foi administrada na dose de 50mg/Kg/dose total (~1200mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

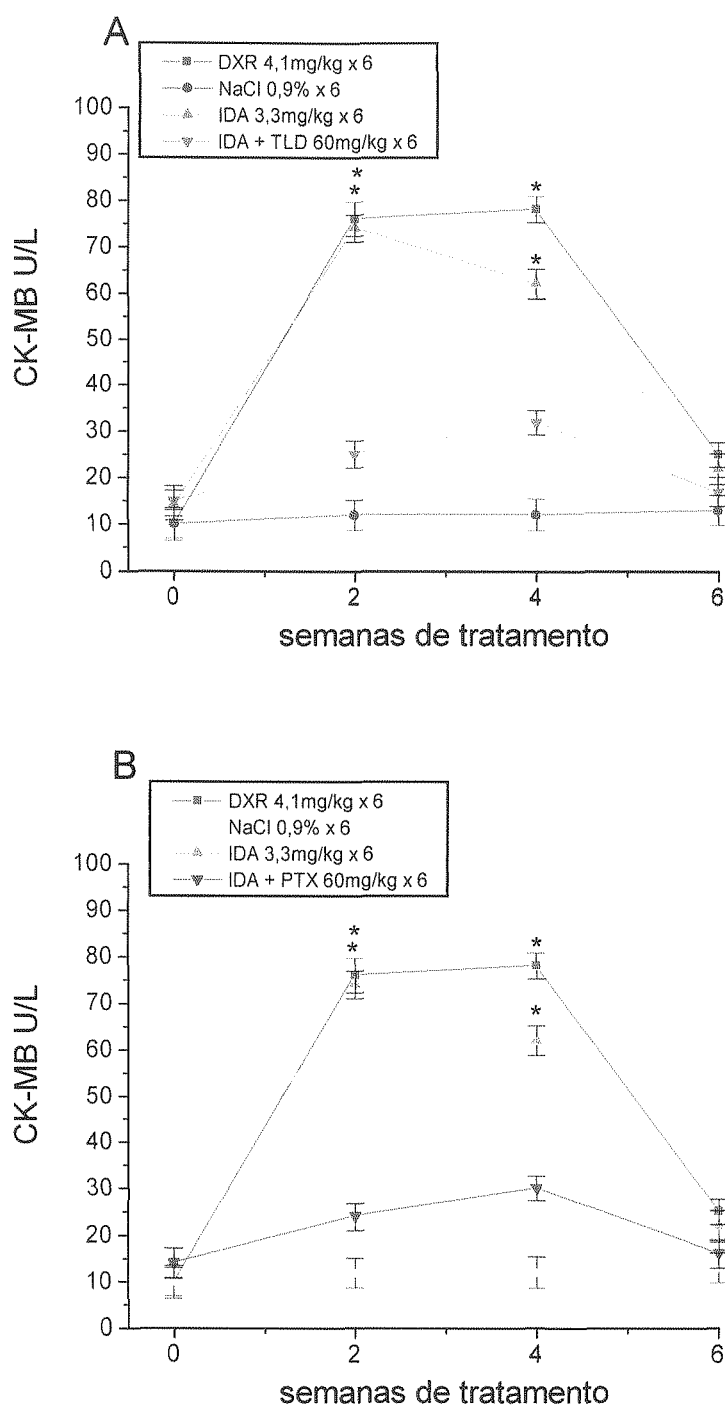


Figura 33. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de CK-MB induzidos por idarubicina : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a idarubicina foi administrada na dose de 20mg/Kg/dose total (~480mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

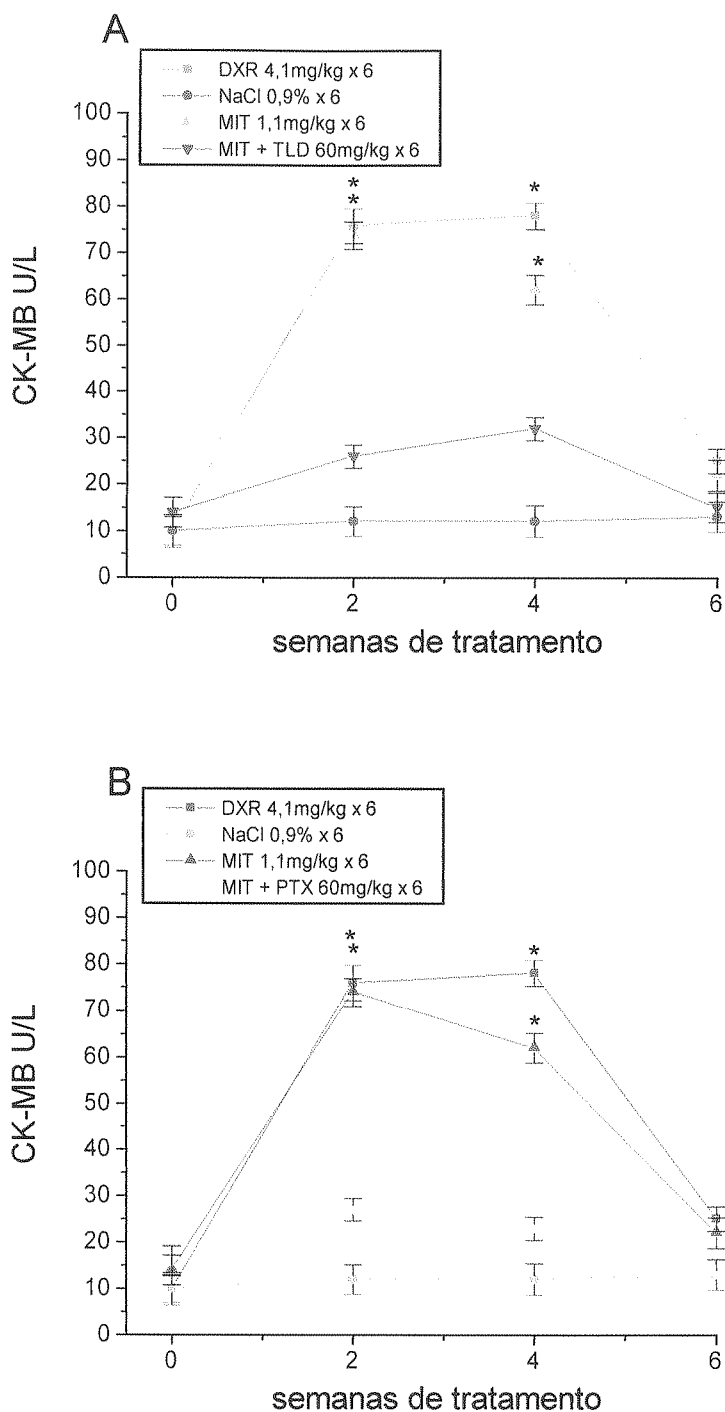


Figura 34. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de CK-MB induzidos por mitoxantrona : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a mitoxantrona foi administrada na dose de 8mg/Kg/dose total (~192mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de CK-MB dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). *p<0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.22 Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

Observar que o tratamento com epirubicina (Figura 35), idarubicina (Figura 36) e mitoxantrona (Figura 37), semelhante ao tratamento com doxorubicina, elevam os níveis séricos de LDH, quando comparados ao grupo controle. Estes níveis permanecem elevados até o final da administração das medicações e retornam a valores próximos aos normais 2 semanas após o término do tratamento.

As médias dos valores obtidos são representadas abaixo:

- Tabela 15. Níveis séricos de LDH:

GRUPSO	Semanas de tratamento / níveis séricos de LDH			
	0	2	4	6
Controle	212 mg/dl	234 mg/dl	316 mg/dl	208 mg/dl
Doxorubicina	207 mg/dl	944 mg/dl	867 mg/dl	514 mg/dl
Epirubicina	223 mg/dl	768 mg/dl	614 mg/dl	409 mg/dl
Idarubicina	207 mg/dl	874 mg/dl	701 mg/dl	422 mg/dl
Mitoxantrona	287 mg/dl	896 mg/dl	765 mg/dl	451 mg/dl

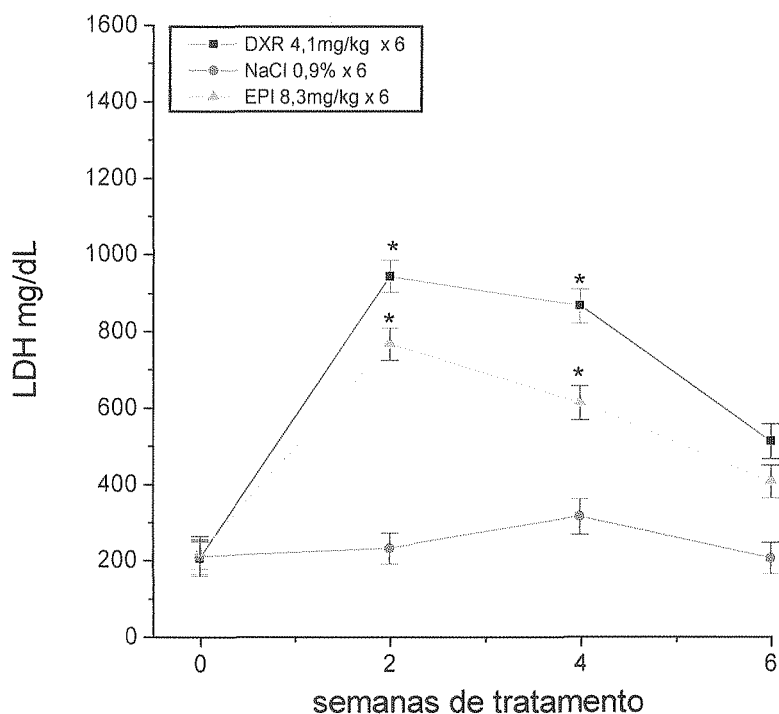


Figura 35. Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina : A epirubicina foi administrada na dose de 50mg/Kg/dose total ($\sim 1200\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

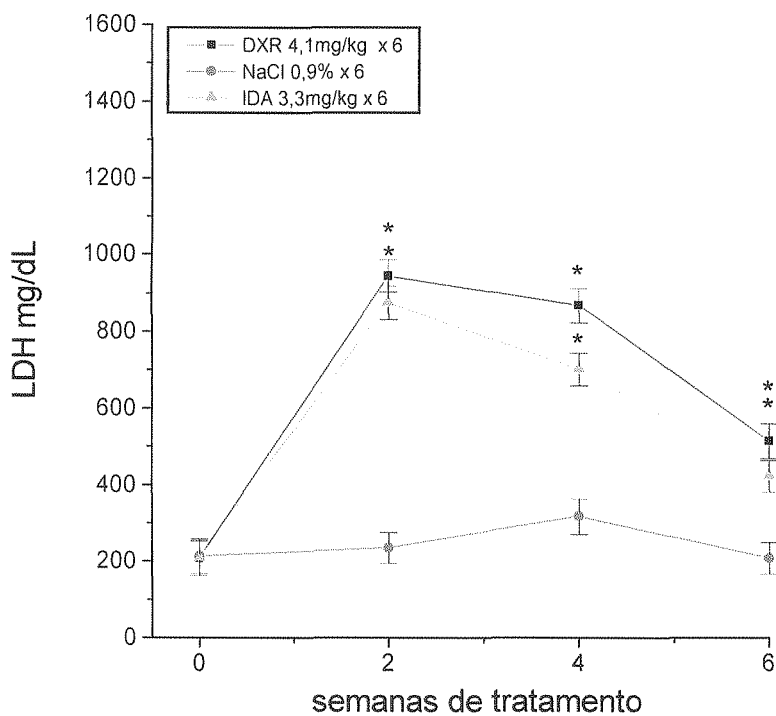


Figura 36. Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por idarubicina : A idarubicina foi administrada na dose de 20mg/Kg/dose total ($\sim 480\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

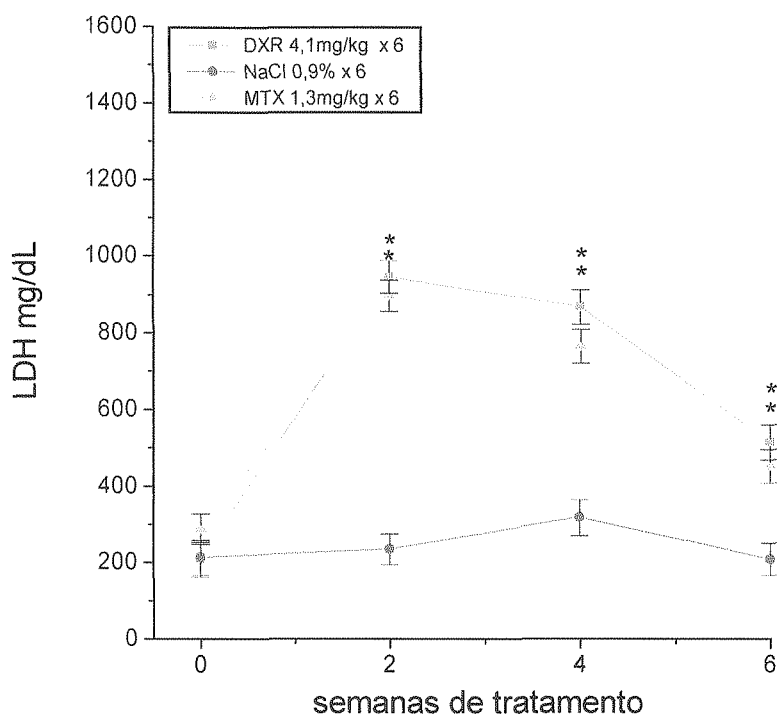


Figura 37. Alterações nos níveis séricos de LDH induzidos por mitoxantrona : A mitoxantrona foi administrada na dose de 8mg/Kg/dose total ($\sim 192\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.23 A talidomida e pentoxifilina previnem a elevação dos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.

Observar que a administração de talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) concomitantemente ao tratamento com epirubicina (Figura 38), idarubicina (Figura 39) e mitoxantrona (Figura 40), previnem a elevação dos níveis séricos de LDH, quando comparados ao grupo tratado apenas com doxorubicina.

As médias dos valores obtidos são representadas abaixo:

- Tabela 16. Níveis séricos de LDH em animais tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona:

GRUPOS	Semanas de tratamento / níveis séricos de LDH			
	0	2	4	6
Controle	212 mg/dl	234 mg/dl	316 mg/dl	208 mg/dl
Doxorubicina	207 mg/dl	944 mg/dl	867 mg/dl	514 mg/dl
Epirubicina	223 mg/dl	768 mg/dl	614 mg/dl	409 mg/dl
EPI + TLD	256 mg/dl	334 mg/dl	312 mg/dl	287 mg/dl
EPI + PTX	261 mg/dl	327 mg/dl	299 mg/dl	313 mg/dl
Idarubicina	207 mg/dl	874 mg/dl	701 mg/dl	422 mg/dl
IDA + TLD	261 mg/dl	318 mg/dl	389 mg/dl	267 mg/dl
IDA + PTX	243 mg/dl	308 mg/dl	351 mg/dl	286 mg/dl
Mitoxantrona	287 mg/dl	896 mg/dl	765 mg/dl	451 mg/dl
MIT + TLD	253 mg/dl	322 mg/dl	378 mg/dl	304 mg/dl
MIT + PTX	262 mg/dl	346 mg/dl	304 mg/dl	299 mg/dl

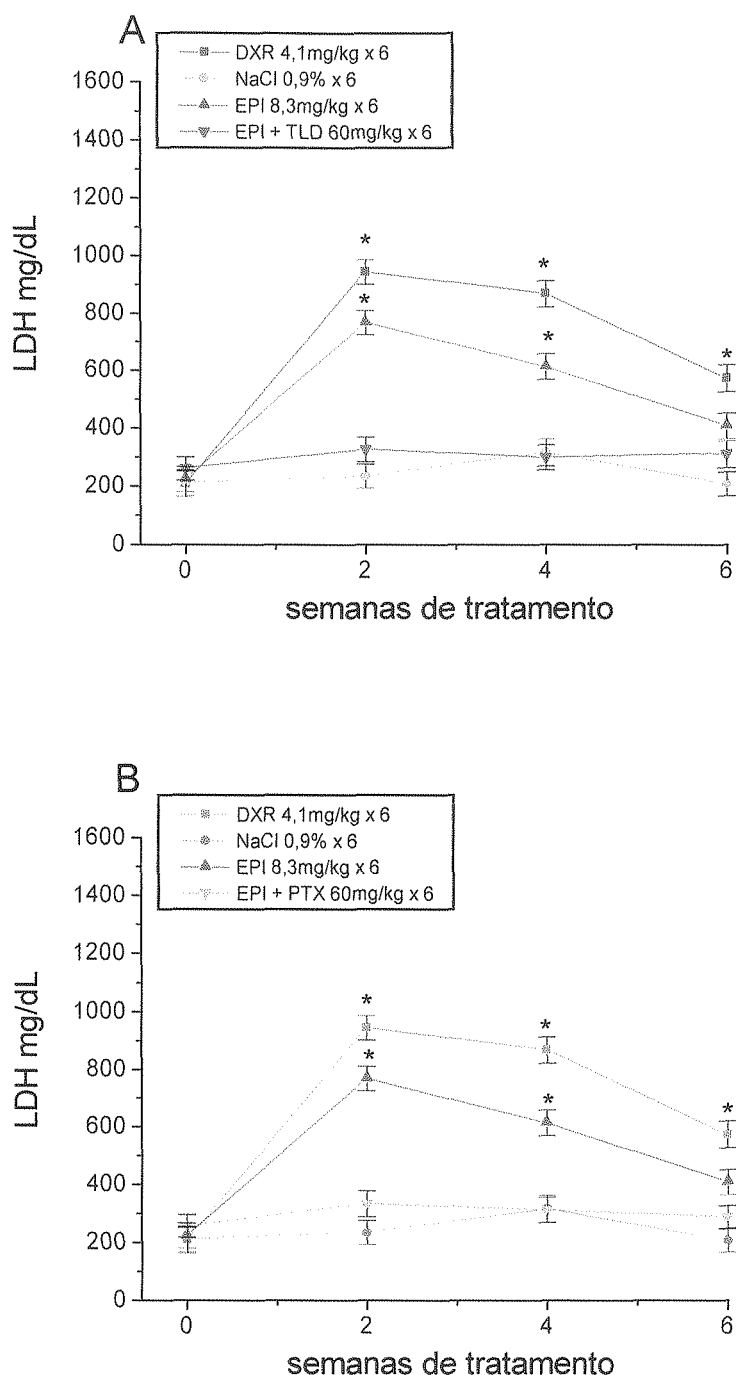


Figura 38. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de LDH induzidos por epirubicina : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a epirubicina foi administrada na dose de 50mg/Kg/dose total ($\sim 1200\text{mg/m}^2$) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

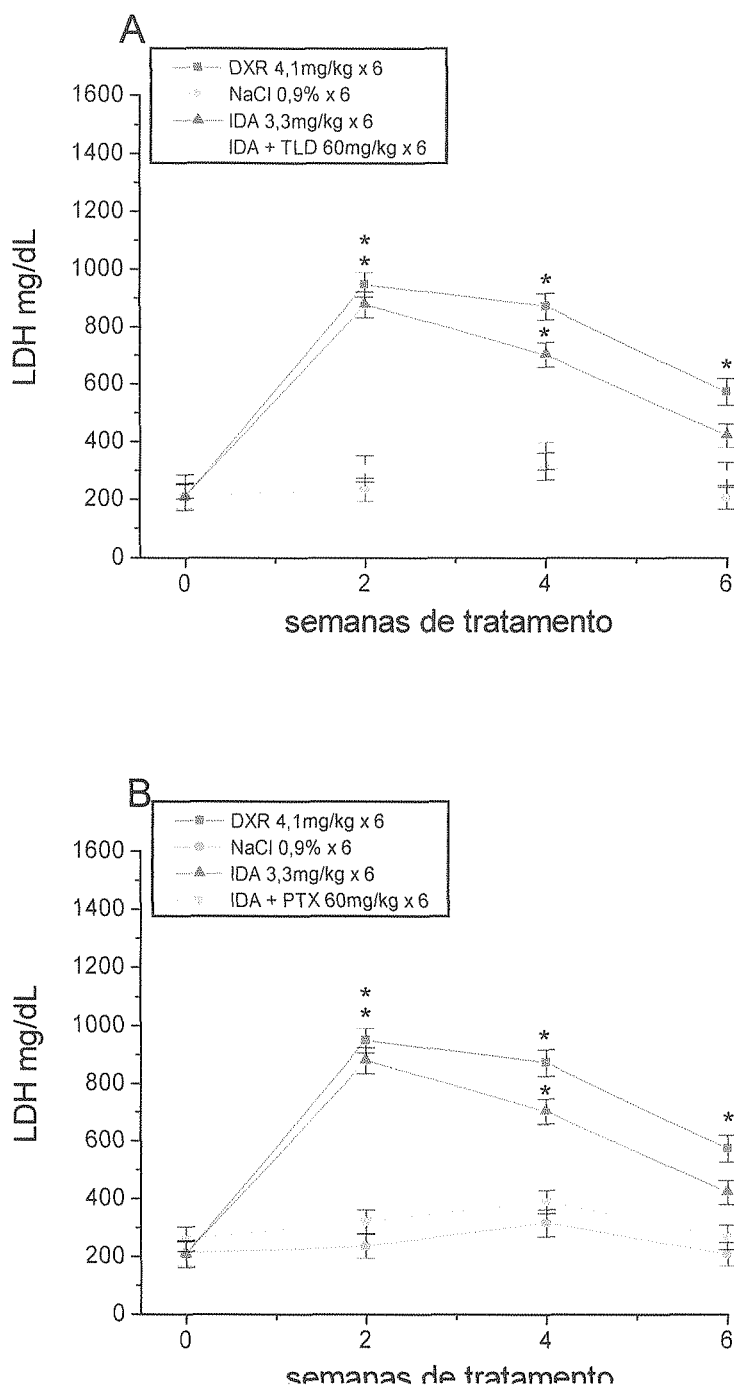


Figura 39. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de LDH induzidos por idarubicina : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a idarubicina foi administrada na dose de 16,6mg/Kg/dose total (~400mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

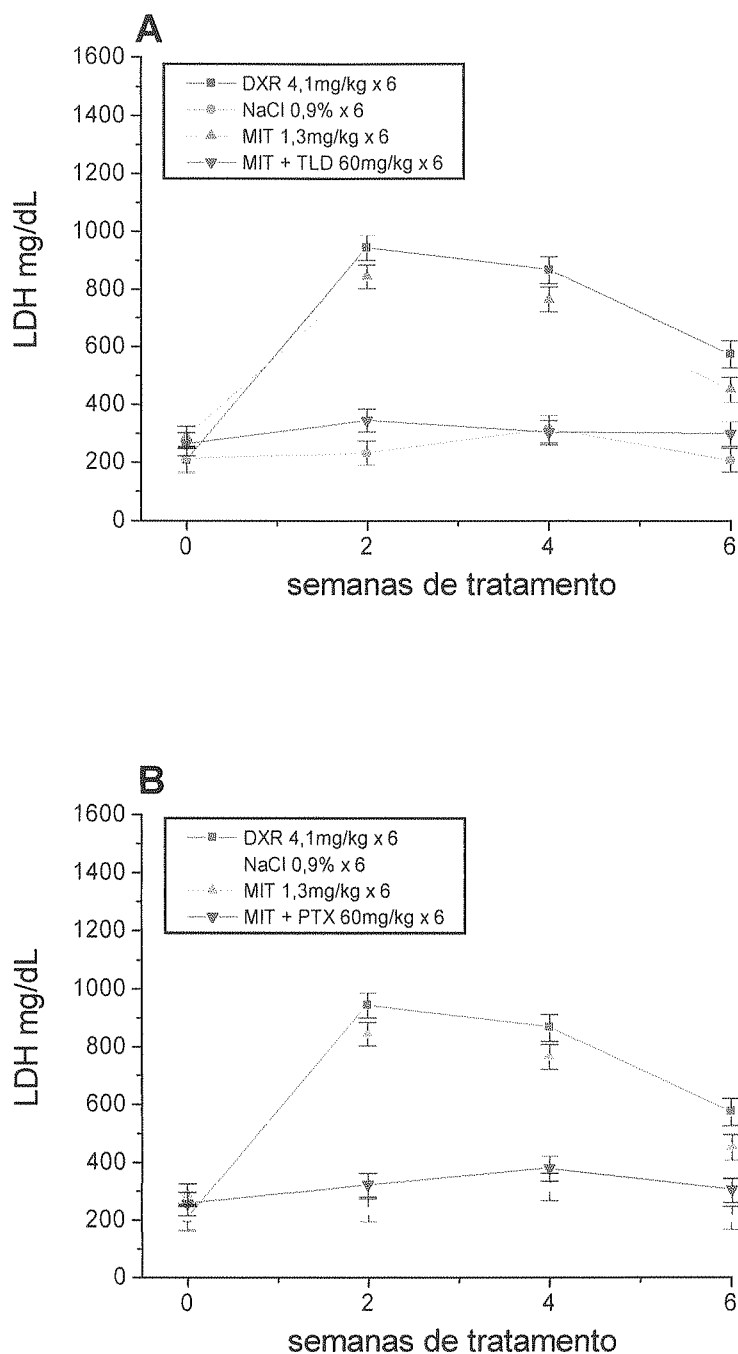


Figura 40. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem a elevação nos níveis séricos de LDH induzidos por mitoxantrona : A talidomida foi administrada por via SC na dose de 60mg/kg/dia, a mitoxantrona foi administrada na dose de 8mg/Kg/dose total (~192mg/m²) por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml, i.p.) Os níveis séricos de LDH dos animais foram obtidos antes do início do tratamento e depois na 2^a, 4^a e 6^a semana de tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.24 A talidomida e pentoxifilina previnem o déficit ponderal induzido por epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

Em ambos os painéis de cada figura são representados o grupo controle, o grupo tratado com doxorubicina na dose de 25mg/kg e o grupo correspondente ao antracíclico (epi, ida ou mitoxantrona). Observar que a talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B), previnem o déficit ponderal induzido por epirubicina (Figura 41), idarubicina (Figura 42) e mitoxantrona (Figura 43). No painel A das figuras 41, 42 e 43, observar que a curva ponderal do grupo controle e talidomida se assemelham, assim como as curvas da doxorubicina com o antracíclico correspondente. No painel B, estão representados os resultados do tratamento com pentoxifilina, que são similares aos observados no painel A.

Os animais do grupo controle têm um ganho ponderal de aproximadamente 20g semanais. O mesmo não se observa nos grupos tratados com doxo, epi, ida e mitoxantrona (ver figuras correspondentes), onde se percebe uma perda ponderal em média de 12g a partir da 3^a semana, tornando-se mais acentuada na 4^a semana e tendendo a elevação a partir da 5^a semana de tratamento.

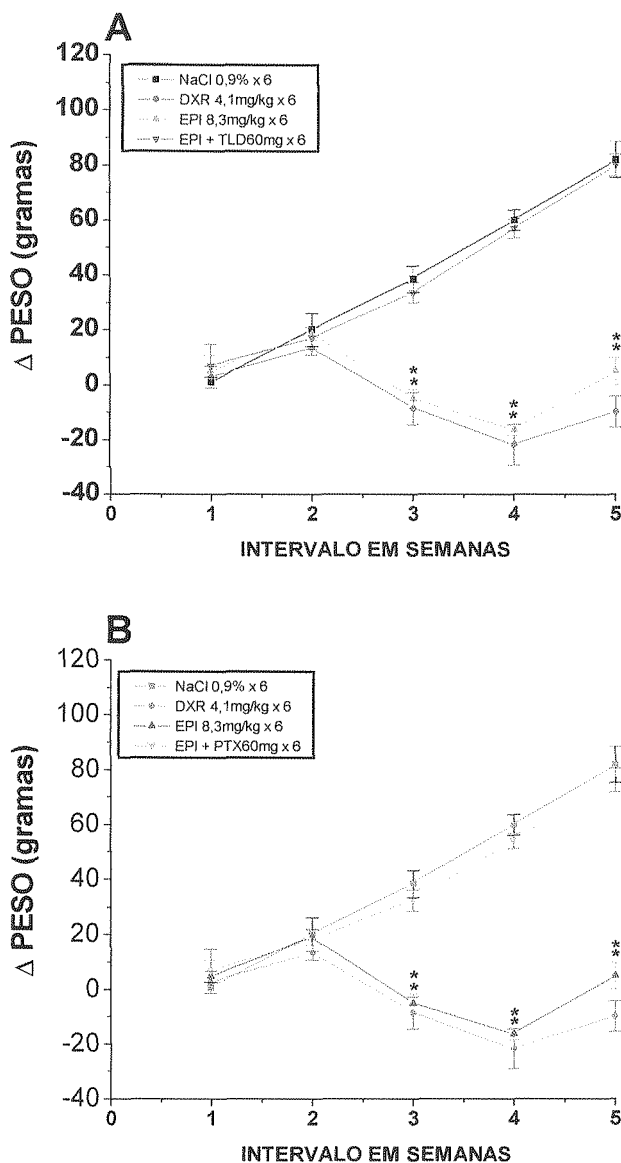


Figura 41. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem o déficit ponderal induzido por epirubicina: A talidomida e pentoxifilina foram administradas por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a EPI na dose de 50mg Kg/dose total por via i.p. (~1200mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas). O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os resultados são expressos como média \pm DP da variação (Δ) de peso, em relação ao peso inicial. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

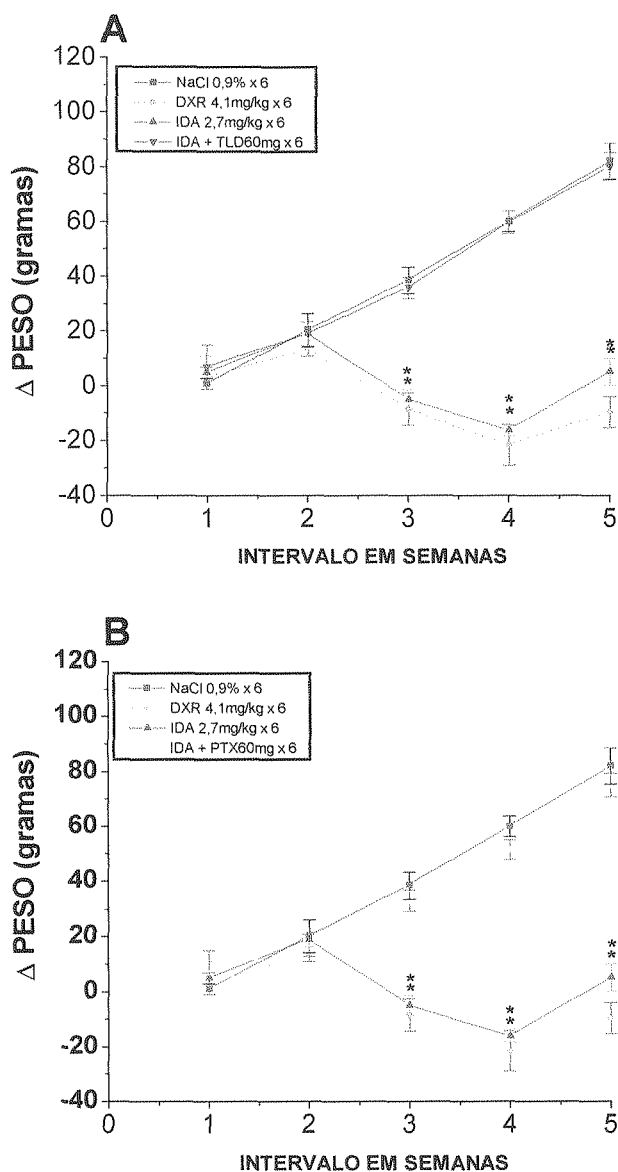


Figura 42. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem o déficit ponderal induzido por idarubicina: A talidomida e pentoxifilina foram administradas por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a IDA na dose de 20mg Kg/dose total por via i.p. (~480mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas). O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os resultados são expressos como média \pm DP da variação (Δ) de peso, em relação ao peso inicial. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

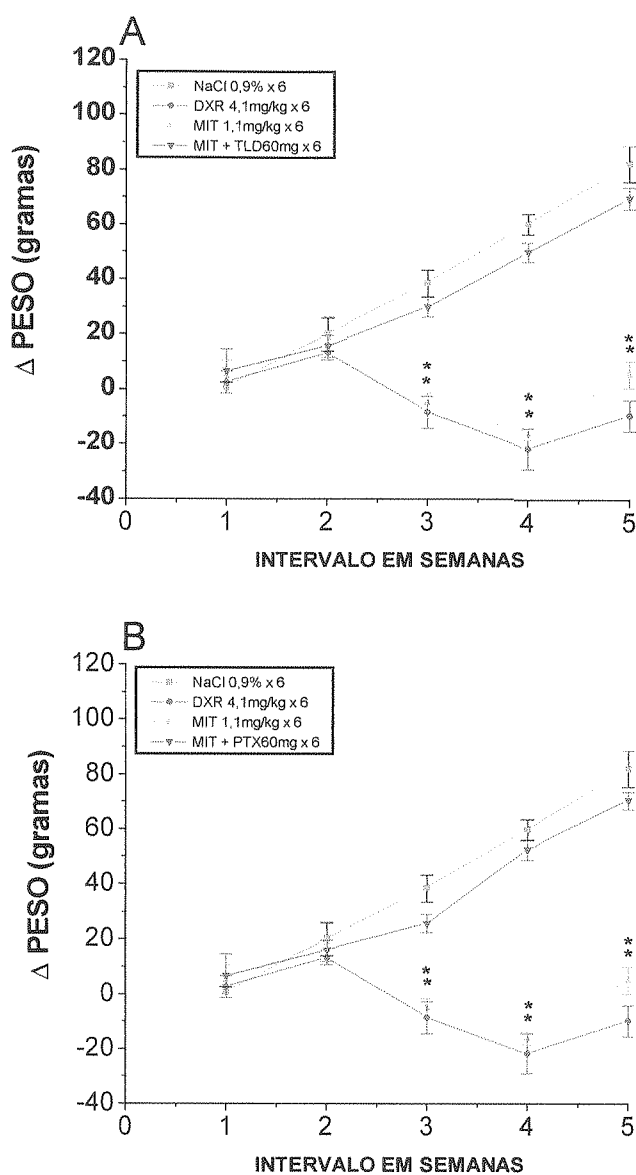


Figura 43. A talidomida (Painel A) e pentoxifilina (Painel B) previnem o déficit ponderal induzido por mitoxantrona: A talidomida e pentoxifilina foram administradas por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia, a MIT na dose de 8mg Kg/dose total por via i.p. (~192mg/m², fracionada em 6 doses iguais por 2 semanas). O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os resultados são expressos como média \pm DP da variação (Δ) de peso, em relação ao peso inicial. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.25 O tratamento com talidomida e pentoxifilina altera o percentual de mortalidade animal induzida por doxorubicina e análogos antracíclicos

O número de animais iniciais para cada grupo foi de 10. Na 2ª semana do início do tratamento 1 animal do grupo controle faleceu de causa indeterminada. No grupo que recebeu doxorubicina na dose cardiotoxica padrão de 25mg/kg/dose total, o percentual de mortalidade foi de 60. Nos animais que receberam epi (50mg/kg), ida (20mg/kg), mitoxantrona (8mg/kg, Painel A) o percentual de mortalidade foi 50, 50 e 60%, respectivamente. Nos que receberam além do tratamento com antracíclicos 60mg/kg/dia de TLD (Figura 44) ou pentoxifilina (Figura 45) observar que o percentual de mortalidade diminui de forma significativa (Painel B).

A principal causa de mortalidade nesses grupos foram; a) a toxicidade aguda para o Trato Gastrintestinal (mucosite); b) mielotoxicidade (infecção e plaquetopenia); c) Insuficiência Cardíaca Congestiva (dispnéia, taquicardia e volumosa ascite).

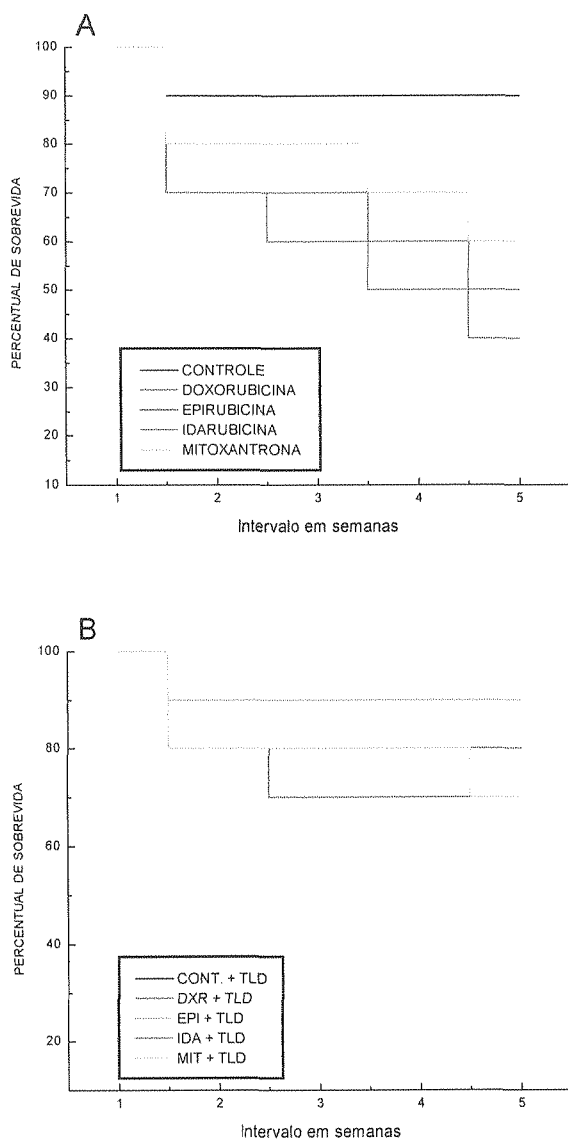


Figura 44. O tratamento com talidomida (Painel B) modifica a mortalidade animal induzida por doxorubicina e análogos antracíclicos (Painel A) : A talidomida foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia e a DXR, EPI, IDA E MIT nas doses de 25,0; 50,0, 20,0 e 8 mg/Kg/dose total, respectivamente, por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu salina 0,9% (0,5ml; i.p.).

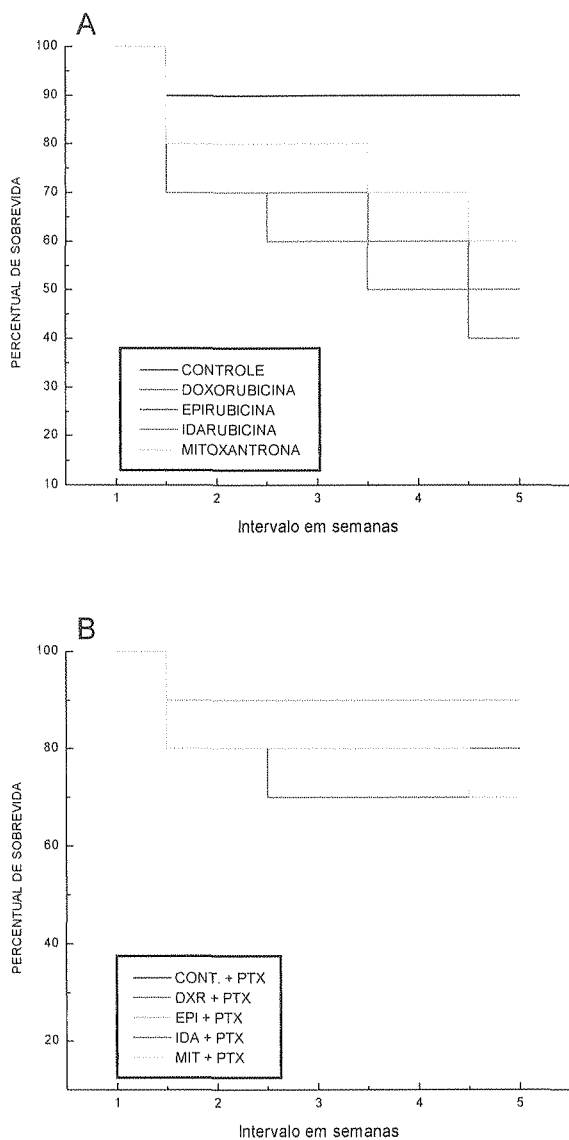


Figura 45. O tratamento com pentoxifilina (Painel B) modifica a mortalidade animal induzida por doxorubicina e análogos antracíclicos (Painel A) : A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (S.C.) na dose de 60mg/Kg/dia e a DXR, EPI, IDA E MIT nas doses de 25,0; 50,0, 20,0 e 8 mg/Kg/dose total, respectivamente, por via i.p. , respectivamente divididas em 6 aplicações, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu salina 0,9% (0,5ml; i.p.).

3.26 A talidomida e pentoxifilina previnem o aumento dos índices cardíaco, hepático e esplênico induzidos por doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona

Observar nas Tabelas 17 e 18, que a doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona, elevam os índices cardíaco, hepático e esplênico, de forma bastante semelhante. Estes índices são muito próximos aos grupo controle, quando além de receber os respectivos antracíclicos os animais recebem concomitantemente talidomida (Tabela 17) ou pentoxifilina (Tabela 18).

Tabela 17. Efeito do tratamento com talidomida (TLD) sobre os índices cardíaco, hepático e esplênico de animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina.

GRUPOS	Nº. de animais	Índice Cardíaco	Índice Hepático	Índice Esplênico
Controle (NaCl 0,9%)	10	0.26 ± 0.03	1.82 ± 0.16	0.89 ± 0.03
DXR	5	0.5 ± 0.05*	5.19 ± 0.18*	1.73 ± 0.06*
DXR + TLD	10	0.29 ± 0.03	2.3 ± 0.19	0.88 ± 0.06
EPI	6	0.47 ± 0.06*	5.4 ± 0.2*	1.67 ± 0.05*
EPI + TLD	8	0.31 ± 0.06	2.5 ± 0.15	1.0 ± 0.03
IDA	7	0.39 ± 0.05*	4.8 ± 0.16*	1.66 ± 0.07*
IDA + TLD	7	0.28 ± 0.03	2.2 ± 0.13	0.89 ± 0.06
MIT	7	0.46 ± 0.04*	4.9 ± 0.13*	1.72 ± 0.04*
MIT + TLD	8	0.29 ± 0.05	2.2 ± 0.15	0.78 ± 0.06

A talidomida foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0 mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os índices obtidos equivalem ao peso úmido dos órgãos em relação ao peso corporal. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

Tabela 18. Efeito do tratamento com pentoxifilina (PTX) sobre os índices cardíaco, hepático e esplênico de animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina.

GRUPOS	Nº. de animais	Índice Cardíaco	Índice Hepático	Índice Esplênico
Controle (NaCl 0,9%)	10	0.26 ± 0.03	1.82 ± 0.16	0.89 ± 0.03
DXR	5	0.5 ± 0.05*	5.19 ± 0.18*	1.73 ± 0.06*
DXR + PTX	10	0.29 ± 0.03	2.3 ± 0.16	0.97 ± 0.05
EPI	6	0.47 ± 0.06*	5.4 ± 0.2*	1.67 ± 0.05*
EPI + PTX	8	0.32 ± 0.04	2.6 ± 0.12	0,9 ± 0.04
IDA	7	0.39 ± 0.05*	4.8 ± 0.16*	1.66 ± 0.07*
IDA + PTX	7	0.27 ± 0.04	2.1 ± 0.13	0.91 ± 0.04
MIT	7	0.46 ± 0.04*	4.9 ± 0.13*	1.72 ± 0.04*
MIT + PTX	8	0.30 ± 0.06	2.3 ± 0.16	0.88 ± 0.03

A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0 mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os índices obtidos equivalem ao peso úmido dos órgãos em relação ao peso corporal. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) p < 0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.27 Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre a mielotoxicidade dos análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Observar que houve diminuição dos valores da hemoglobina, leucometria e contagem plaquetária, nos animais de todos os grupos tratados com doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona e que esta diminuição foi mais acentuada no 15º dia do início do tratamento. No 45º dia já se observa recuperação destes índices em todos os grupos.

Nos animais que utilizaram concomitante ao antracíclico 60mg/kg/dia de talidomida (Tabela 19) ou pentoxifilina (Tabela 20), a mielossupressão não ocorre de forma tão intensa quanto nos grupos não tratados com essas drogas e os valores de hemoglobina, leucometria e plaquetas no 45º dia dos animais desses grupos eram mais próximos da normalidade, significando melhor recuperação da medula óssea.

Tabela 19. Efeito do tratamento com talidomida (TLD) sobre a mielotoxicidade dos análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Parâmetros hematológicos								
			Hemoglobina (g/dL)			Leucometria (x10 ³)			Plaquetas (x10 ³)		
			D1	D15	D45	D1	D15	45	D1	D15	D45
DIA DA CONTAGEM											
NaCl 0,9% x 6	10	-	13.6	13,2	13,3	13.1	12.8	13.0	539	602	588
DXR 4mg/kg x 6	5	25mg/kg	13.1	6,7*	10,9	12.8	1.9*	4.2*	545	128*	385
EPI 6,5mg/kg x 6	6	50mg/kg	13.4	7,2*	10,0	11.0	1.8*	5.9*	488	135*	296 ^{NS}
EPI + TLD60mg x 6	6	50mg/kg	12.9	9,2 ^{NS}	13,6	12.3	2.9*	11.5	525	374	532
IDA 2,7mg/kg x 6	7	20mg/kg	13.3	7,0*	10,2	13.1	1.7*	3.8*	567	112*	222 ^{NS}
IDA + TLD60mg x 6	7	20mg/kg	12.5	8,9 ^{NS}	12,1	11.9	2.5*	8.4 ^{NS}	566	189	278 ^{NS}
MIT 1,1mg/kg x 6	7	8mg/kg	13.4	6,9*	10,6	12.5	2.1*	9.7 ^{NS}	498	114*	376 ^{NS}
MIT + TLD60mg x 6	7	8mg/kg	12.8	9,6 ^{NS}	12,0	11.8	1.8*	8.1 ^{NS}	672	119*	299 ^{NS}

A talidomida foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia. As doses totais de doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona foram 25,0, 50,0, 20,0 e 8,0mg/Kg, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. As contagens foram feitas em contador eletrônico (Cell-Dynn), com valores de calibração para ratos especificados no manual de instrução). As amostras de sangue foram colhidas antes (D0), quinze (D15) e quarenta e cinco (D45) dias após o início do tratamento. Os resultados são expressos como média \pm DP. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

Tabela 20. Efeito do tratamento com pentoxifilina (PTX) sobre a mielotoxicidade dos análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Parâmetros hematológicos								
			Hemoglobina (g/dL)			Leucometria ($\times 10^3$)			Plaquetas ($\times 10^6$)		
			D1	D15	D45	D1	D15	45	D1	D15	D45
NaCl 0,9% x 6	10	-	13.6	13,2	13,3	13.1	12.8	13.0	539	602	588
DXR 4mg/kg x 6	5	25mg/kg	13.1	6,7*	10,9	12.8	1.9*	4.2*	545	128*	385
EPI 8,3mg/kg x 6	6	50mg/kg	13.4	7,2*	10,0	11.0	1.8*	5.9*	488	135*	296 ^{NS}
EPI + PTX60mg x 6	6	50mg/kg	12.6	9,2 ^{NS}	12,9	11.3	2.8*	11.3	495	362	512
IDA 2,7mg/kg x 6	7	20mg/kg	13.3	7,0*	10,2	13.1	1.7*	3.8*	567	112*	222 ^{NS}
IDA + PTX60mg x 6	7	20mg/kg	13.0	8,4 ^{NS}	12,4	12.9	2.4*	8.7 ^{NS}	514	121*	243 ^{NS}
MIT 1,1mg/kg x 6	7	8mg/kg	13.4	6,9*	10,6	12.5	2.1*	9.7 ^{NS}	498	114*	376 ^{NS}
MIT + PTX60mg x 6	7	8mg/kg	12.5	9,8 ^{NS}	11,9	12.5	1.9*	9.2 ^{NS}	532	123*	307 ^{NS}

A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia. As doses totais de doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona foram 25, 50, 0, 20 e 8mg/Kg, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. As contagens foram feitas em contador eletrônico (Cell-Dynn), com valores de calibração para ratos especificados no manual de instrução). As amostras de sangue foram colhidas antes (D0), quinze (D15) e quarenta e cinco (D45) dias após o início do tratamento. Os resultados são expressos como média \pm DP.

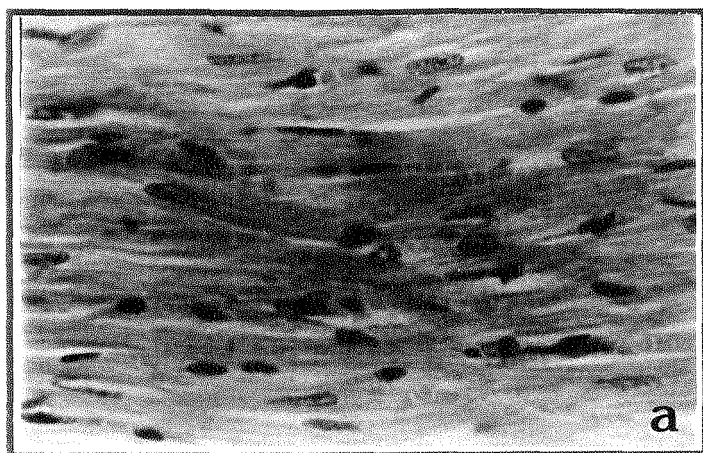
* $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

NS= não significativo estatisticamente.

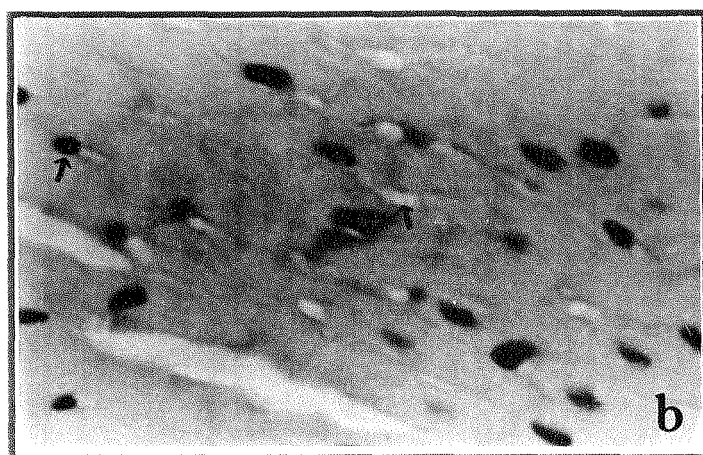
3.28 Caracterização das lesões histopatológicas induzidas por antracíclicos

Na análise histopatológica do miocárdio normal, podemos observar preservação da arquitetura sincicial, com discretas variações do tamanho dos núcleos, que são excêntricos e normocromáticos (Figura 46, Prancha A). Observar na Prancha B da Figura 46, desarranjo das miofibrilas, hiperchromasia, núcleos centrais e picnóticos, presença de vacúolos confluentes de distribuição aparentemente aleatória, isolados ou em pequenos grupos (ver setas Prancha B). Presença de edema intersticial difuso. Não são vistas células de exsudação inflamatória, nem depósitos no interstício ou vasos. Notar detalhe da vacuolização citoplasmática em maior aumento na Prancha C da Figura 46.

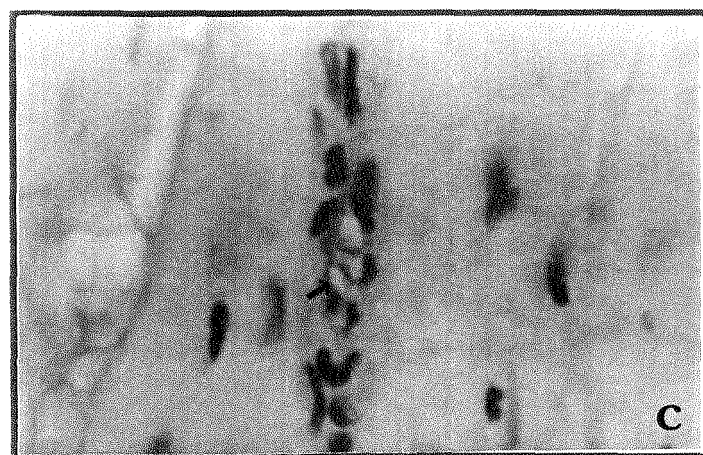
Na figura 47, observar extenso infiltrado inflamatório da parede do VE (Prancha A). Em detalhe na prancha B, infiltração de células inflamatórias na parede de um vaso miocárdico de ratos tratados com doxorubicina na dose de 37.5mg/kg, durante 12 semanas. A prancha C da mesma figura, mostra detalhe dos componentes celulares do infiltrado inflamatório, que é constituído predominantemente por linfócitos, macrófagos e em menor quantidade neutrófilos.



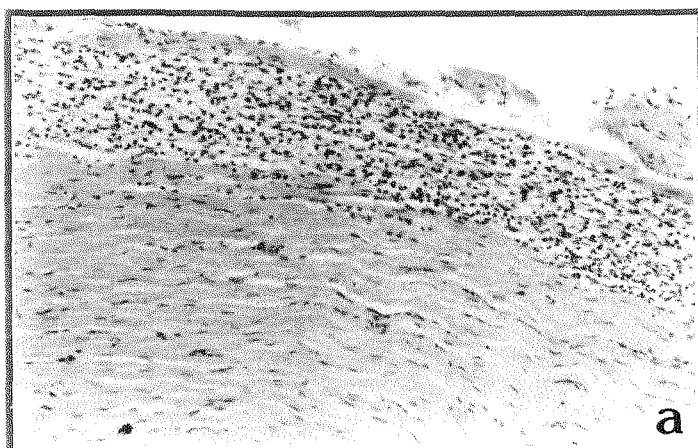
Miocárdio normal de ratos. Coloração HE - 400x



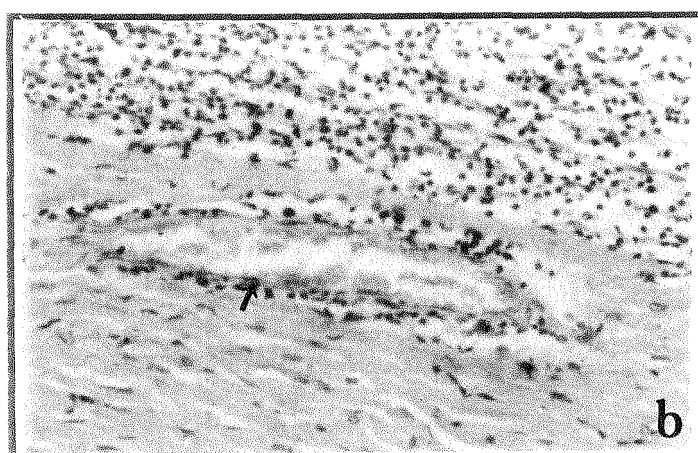
Lesões miocárdicas induzidas por antraciclícos (a: picnose nuclear; b: vacúolos citoplasmáticos, ver seta). Coloração HE - 400x



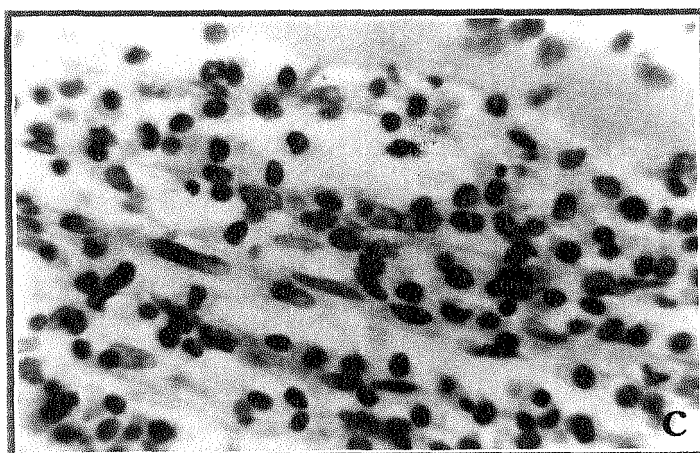
Detalhe de lesão miocárdica induzida por antraciclícos (vacúolo citoplasmático, ver seta). Coloração HE - 1000x



Miocárdio infiltrado por células inflamatórias em ratos tratados com doxorubicina. Coloração HE - 200x



Infiltração de células inflamatórias na parede de um vaso miocárdico (ver seta) em ratos tratados com doxorubicina. Coloração HE - 200x



Detalhe das células inflamatórias infiltrando miocárdio. presença de macrófagos, polimorfonucleares e linfócitos. Coloração HE - 400x

3.29 Análise dos escores microscópicos da lesão miocárdica nos animais tratados com antracíclicos e estudo comparativo com parâmetros eletrocardiográficos

Na análise histopatológica consideramos a média obtida da soma de 4 parâmetros: edema, congestão vascular, picnose nuclear e vacuolização citoplasmática. Foram estabelecidos valores de 0 a 3, e considerados como mais graves as maiores médias obtidas dos escores.

Nas tabelas 21, 22, 23 e 24 comparamos as alterações eletrocardiográficas (alargamento do QT e redução da voltagem do QRS) com a média dos escores das lesões histopatológicas e observamos haver uma relação direta entre a presença das alterações eletrocardiográficas e escores mais elevados, tanto nos animais tratados com doses excedentes de doxorubicina (Tabela 20), quanto naqueles tratados com doses sabidamente cardiotoxícas de epirubicina, idarubicina e mitoxantrona (Tabelas 22 e 23).

Na Tabela 22, observar redução significativa no índice das lesões dos animais tratados com doxorubicina em doses excedentes + talidomida ou pentoxifilina. Comportamento semelhante pode ser observado na média dos índices dos demais análogos (Tabelas 23 e 24), onde o tratamento com talidomida ou pentoxifilina juntamente com o antracíclico, consegue prevenir o surgimento de alterações eletrocardiográficas significativas.

Tabela 21. Parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade convencional (Média \pm Desvio Padrão)

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Eletrocardiograma		Média dos escores histopatológicos
			QTc (mS)	QRS (mV)	
NaCl 0,9% x 6	10	-	20 \pm 1,3	1,0 \pm 0,06	0
DXR 4mg/kg x 6	5	25mg/kg	38 \pm 1,2*	0,6 \pm 0,05*	3*
DXR 3mg/kg x 12	4	37,5mg/kg	40 \pm 1,1*	0,5 \pm 0,05*	3*
DXR 4mg/kg x 12	3	50mg/kg	40 \pm 1,4*	0,5 \pm 0,03*	3*

As doses totais de DXR foram de 25, 37,5 e 50 mg/Kg, dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses, durante 2 semanas (grupo que recebeu 25mg/dk) e 12 doses durante 4 semanas com intervalo de 2 semanas entre as primeiras 6 aplicações e as restantes (demais grupos). O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5a. semana após o início do tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10).

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

NS = não significativo estatisticamente.

Tabela 22. Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre os parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com doxorubicina em doses excedentes a dose cardiotoxicidade convencional (Média \pm Desvio Padrão)

Tratamento	Nº de animais	Dose cumulativa (mg/kg)	Eletrocardiograma		Média dos escores histopatológicos
			QTc (mS)	QRS (mV)	
NaCl 0,9% x 6	10	-	20 \pm 1.3	1,0 \pm 0.06	0
DXR 4mg/kg x 6	5	25mg/kg	38 \pm 1.2*	0,6 \pm 0.05*	3*
DXR + TLD	6	60mg/kg/dia**	26 \pm 1.1	1,0 \pm 0.03	1
DXR + PTX	6	60mg/kg/dia***	22 \pm 0.9	1,0 \pm 0.07	0
DXR 3mg/kg x 12	4	37,5mg/kg	40 \pm 1.1*	0,5 \pm 0.05*	3*
DXR + TLD	4	60mg/kg/dia**	26 \pm 1.3	1,0 \pm 0.03	1
DXR + PTX	4	60mg/kg/dia***	28 \pm 0.9	1,0 \pm 0.05	1
DXR 4mg/kg x 12	3	40mg/kg	40 \pm 1.4*	0,5 \pm 0.03*	3*
DXR + TLD		60mg/kg/dia**	22 \pm 1.3	1,0 \pm 0.06	1
DXR + PTX		60mg/kg/dia***	28 \pm 1.3	1,0 \pm 0.04	1

As doses totais de talidomida e pentoxifilina foram 60mg/kg/dia. As doses de DXR foram de 25, 37,5 e 50 mg/Kg, dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses, durante 2 semanas (grupo que recebeu 25mg/dk) e 12 doses durante 4 semanas com intervalo de 2 semanas entre as primeiras 6 aplicações e as restantes (demais grupos). O grupo controle recebeu NaCl a 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5a. semana após o início do tratamento. As barras representam a média \pm DP. O número de animais utilizados foi de 10 para cada grupo (N=10). * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

NS = não significativo estatisticamente.

**** dose diária de talidomida**

***** dose diária de pentoxifilina**

Tabela 23. Efeito do tratamento com talidomida (TLD) comparando os parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina.

GRUPOS	Nº. de animais	Eletrocardiograma		Escore histopatológico
		QTc (mS)	QRS (mV)	
Controle (NaCl 0,9%)	10	20 ± 0.13	1.0 ± 0.06	0
DXR	5	38 ± 0.12*	0.6 ± 0.06*	3*
DXR + TLD	10	20 ± 0.14	1.0 ± 0.05	0
EPI	6	35 ± 0.13*	0.8 ± 0.03	3*
EPI + TLD	8	22 ± 0.13	1.0 ± 0.03	0
IDA	7	29 ± 0.15*	0.8 ± 0.06	2*
IDA + TLD	7	20 ± 0.13	1.0 ± 0.04	0
MIT	6	28 ± 0.11*	0.8 ± 0.02	2*
MIT + TLD	8	20 ± 0.12	1.0 ± 0.05	0

A talidomida foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25; 50; 20 e 8mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média ± desvio padrão (*) p < 0.05 em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

Tabela 24. Efeito do tratamento com pentoxifilina (PTX) comparando os parâmetros eletrocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina.

GRUPOS	Nº. de animais	Eletrocardiograma		Escore histopatológico
		QTc (mS)	QRS (mV)	
Controle (NaCl 0,9%)	10	20 ± 0.13	1.0 ± 0.06	0
DXR	5	38 ± 0.12*	0.6 ± 0.06*	3*
DXR + PTX	10	20 ± 0.14	1.0 ± 0.05	0
EPI	6	35 ± 0.13*	0.8 ± 0.03	3*
EPI + PTX	7	22 ± 0.16	1.0 ± 0.06	0
IDA	7	29 ± 0.15*	0.8 ± 0.06	2*
IDA + PTX	7	20 ± 0.15	1.0 ± 0.02	0
MIT	6	28 ± 0.11*	0.8 ± 0.02	2*
MIT + PTX	8	20 ± 0.14	1.0 ± 0.07	0

A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25; 50; 20 e 8mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os traçados eletrocardiográficos foram obtidos na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média ± desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.30 Efeito do tratamento com talidomida e pentoxifilina sobre os parâmetros ecocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina

O cálculo da fração de encurtamento ($\% \Delta D$) foi obtido através de corte paraesternal transverso no Modo-M. Observar que houve redução da fração de encurtamento, de forma significativa em todos os grupos tratados com antracíclico. Estas reduções significam uma perda funcional entre 18 a 45% da capacidade de ejeção do ventrículo esquerdo na sístole. Esta alteração foi mais acentuada no grupo que recebeu doxorubicina.

Observar que existe correlação entre a redução na fração de encurtamento e aumento nos níveis das lesões histopatológicas e que os animais do grupo tratado com talidomida (Tabela 25) e pentoxifilina (Tabela 26) apresentam redução significativa no surgimento dessas lesões.

O teste utilizado para esta análise foi o de Kruskal-Wallis.

Tabela 25. Efeito do tratamento com talidomida (TLD) sobre os parâmetros ecocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Grupos	Nº. de animais	Ecocardiograma (% Δ D)	Escore histopatológico
Controle (NaCl 0,9%)	10	69.5 \pm 3.2	0
DXR	5	38.2 \pm 1.9*	3*
DXR + TLD	10	67.0 \pm 3.5	0
EPI	6	41.5 \pm 3.1*	3*
EPI + TLD	8	69.7 \pm 3.6	0
IDA	7	54.3 \pm 3.4	2*
IDA + TLD	7	61.7 \pm 2.9	0
MIT	7	49.3 \pm 3.2*	2*
MIT + TLD	8	68.9 \pm 2.9	0

A talidomida foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25,0; 50,0; 20,0 e 8,0, dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os registros ecocardiográficos transtorácicos foram obtidos pelo Modo-M com sonda de 7.5MHz na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

Tabela 26. Efeito do tratamento com pentoxifilina (PTX) sobre os parâmetros ecocardiográficos e escores correspondentes de lesão miocárdica em animais tratados com análogos antracíclicos vs doxorubicina.

Grupos	Nº. de animais	Ecocardiograma (% Δ D)	Escore histopatológico
Controle (NaCl 0,9%)	10	69.5 \pm 3.2	0
DXR	5	38.2 \pm 1.9*	3*
DXR + PTX	10	68.2 \pm 3.6	0
EPI	6	41.5 \pm 3.1*	3*
EPI + PTX	7	67.4 \pm 2.6	0
IDA	7	54.3 \pm 3.4	2*
IDA + PTX	7	64.3 \pm 3.4	0
MIT	6	49.3 \pm 3.2*	2*
MIT + PTX	8	67.9 \pm 3.3	0

A pentoxifilina foi administrada por via subcutânea (SC) na dose de 60mg/kg/dia, as doses totais de DXR, EPI, IDA e MIT foram de 25; 50; 20 e 8mg/kg/dose total, respectivamente, administradas i.p., em 6 doses iguais, durante 2 semanas. O grupo controle recebeu NaCl 0,9% (0,5ml; i.p.). Os registros ecocardiográficos transtorácicos foram obtidos pelo Modo-M com sonda de 7.5MHz na 5ª semana após o início do tratamento. Os valores são expressos como média + desvio padrão (*) $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA-Tukey).

3.31 Diagramas de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis séricos dos marcadores bioquímicos, comparados as alterações eletrocardiográficas (QTc e QRS), Fração de encurtamento do VE e escore das lesões miocárdicas.

Observar que a correlação linear entre os níveis de troponina T ($R=0,88$, Figura 48, Painel A), CK-MB ($R=0,96$, Figura 49, Painel A) e LDH ($R=0,82$, Figura 50, Painel A) e duração do segmento QT é diretamente proporcional, o que significa dizer que níveis séricos mais elevados desses marcadores estão diretamente relacionados a um prolongamento do intervalo QT.

A correlação linear entre os níveis de troponina T ($R=-0,91$, Figura 48, Painel B), CK-MB ($R= - 0,91$, Figura 49, Painel B) e LDH ($R= - 0,89$, Figura 50, Painel B) e voltagem do complexo QRS é inversamente proporcional, o que significa dizer que níveis séricos mais elevados desses marcadores estão diretamente relacionados a uma redução na voltagem do QRS.

A correlação linear entre os níveis de troponina T ($R= -0,91$, Figura 48, Painel C), CK-MB ($R= - 0,94$, Figura 49, Painel C) e LDH ($R= - 0,93$, Figura 50, Painel C) e fração de encurtamento do VE é inversamente proporcional, o que significa dizer que níveis séricos mais elevados desses marcadores estão diretamente relacionados a uma redução na fração de encurtamento.

A correlação linear entre os níveis de troponina T ($R=0,96$, Figura 48, Painel D), CK-MB ($R=0,96$, Figura 49, Painel D) e LDH ($R=0,93$, Figura 50, Painel D) e escore das lesões histopatológicas é diretamente proporcional, o que significa dizer que níveis séricos mais elevados desses marcadores estão diretamente relacionados a maiores índices de lesão miocárdica.

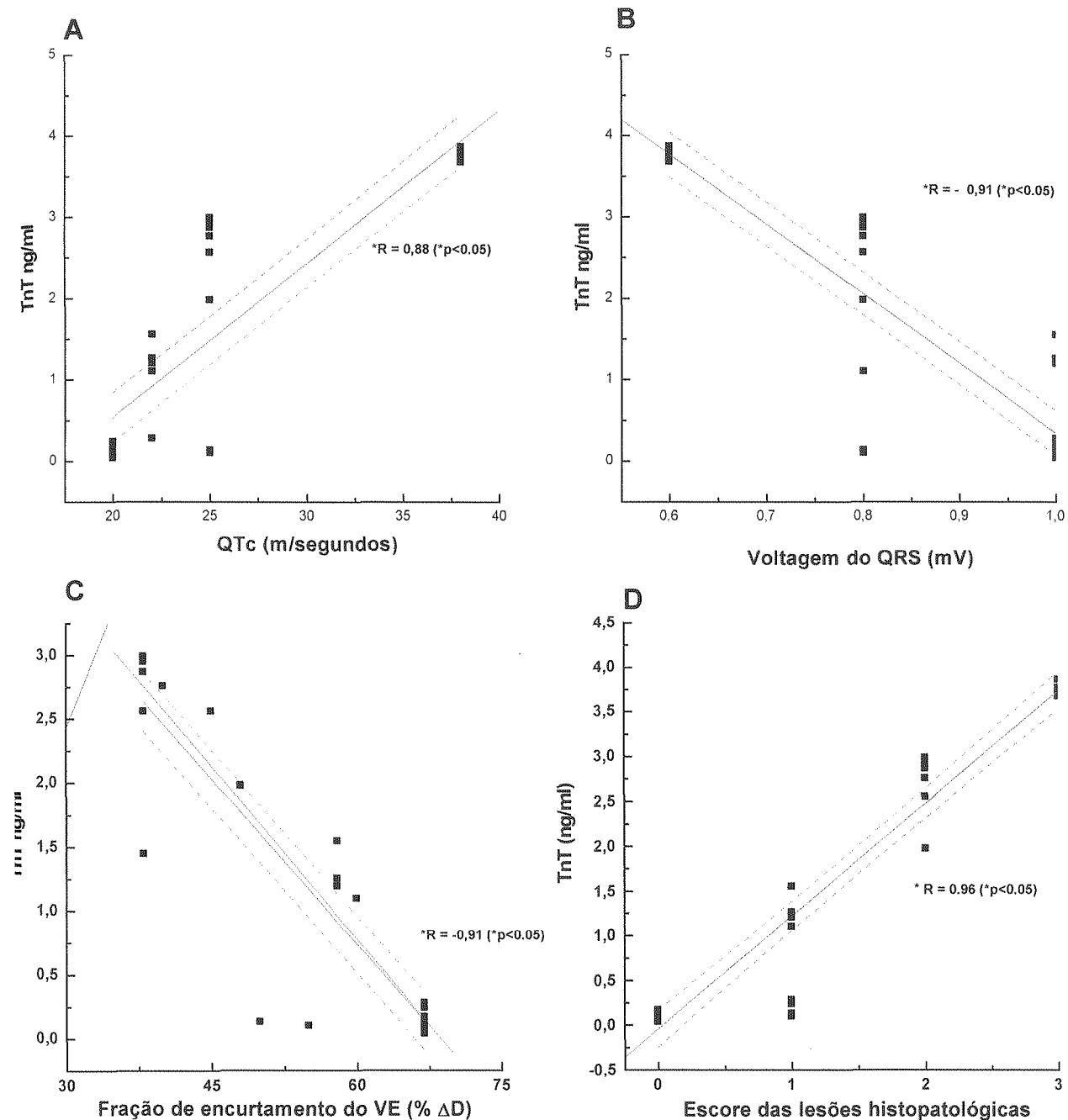


Figura 48. Diagramas de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis de troponina T e QTc (Painel A), Voltagem do QRS (Painel B), Fração de encurtamento do VE (Painel C) e Escore das alterações histopatológicas (Painel D). As linhas pontilhadas significam o intervalo de confiança de 95% e R o coeficiente de correlação.

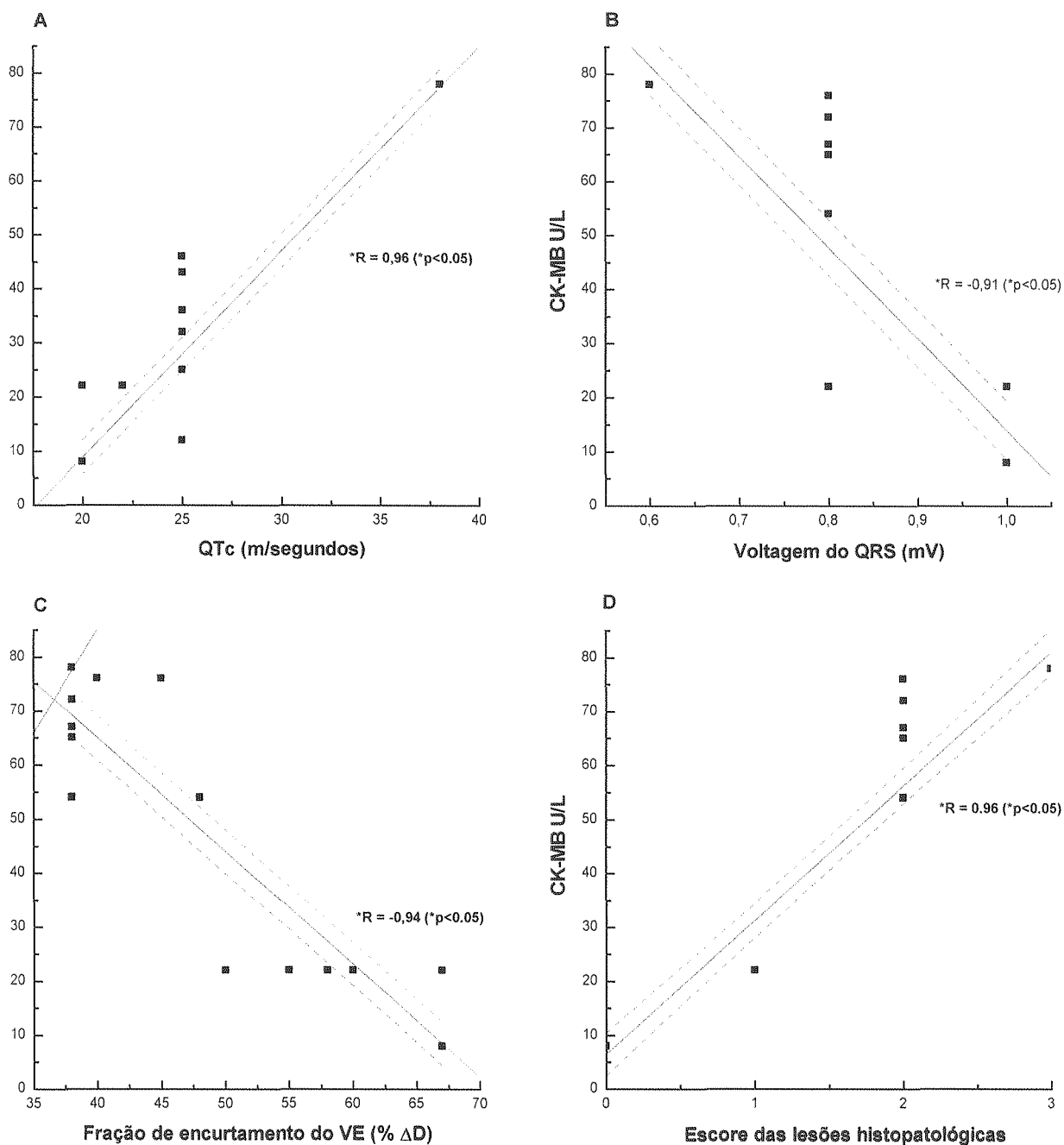


Figura 49. Diagramas de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis séricos de CK-MB e QTc (Painel A), Voltagem do QRS (Painel B), Fração de encurtamento do VE (Painel C) e Escore das alterações histopatológicas (Painel D). As linhas pontilhadas significam o intervalo de confiança de 95% e R o coeficiente de correlação.

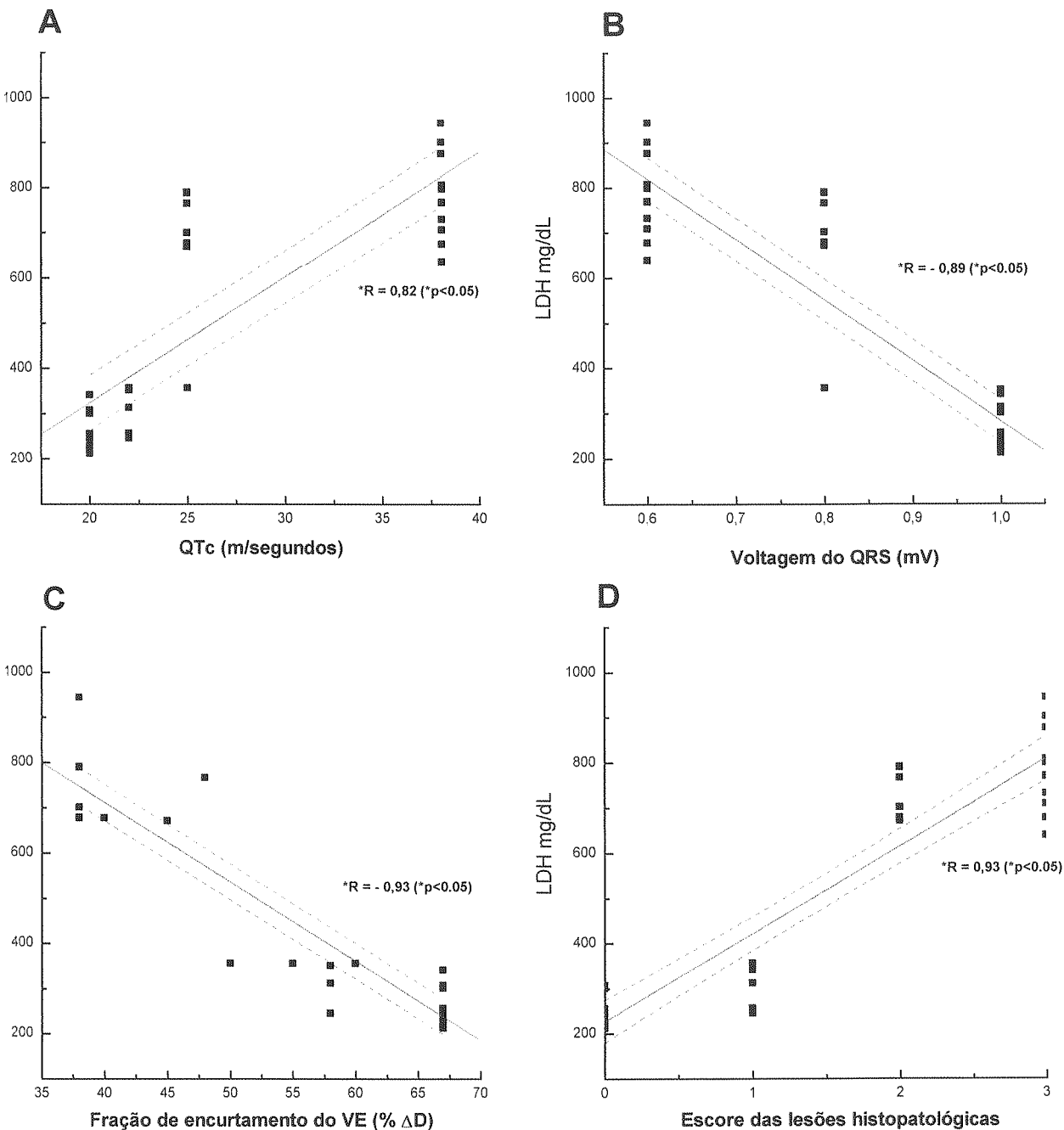


Figura 50. Diagramas de dispersão dos valores indicativos de lesão cardíaca determinados pelos níveis séricos de LDH e QTc (Painel A), Voltagem do QRS (Painel B), Fração de encurtamento do VE (Painel C) e Escore das alterações histopatológicas (Painel D). As linhas pontilhadas significam o intervalo de confiança de 95% e R o coeficiente de correlação.

Discussão dos Resultados

DISCUSSÃO:

A utilização de antibióticos antracíclicos na clínica oncológica é limitado pela cardiotoxicidade dose-relacionada. A magnitude deste problema clínico é particularmente maior na abordagem do câncer de mama, onde a decisão para aplicar esta droga antineoplásica em protocolos de quimioterapia adjuvante deve levar em conta o risco de desenvolver cardiotoxicidade em um grupo incluindo indivíduos potencialmente curáveis.

A Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC) é a única desordem cardiovascular importante que está aumentando em incidência, predomínio, e letalidade. Embora a incidência de muitas formas de doença cardiovascular tenham diminuído, a incidência de ICC aumentou notadamente nas últimas 2 décadas. Em parte, os avanços na terapia do câncer e a introdução da doxorubicina e seus análogos, têm contribuído para o aumento desta incidência. Além do mais, pacientes com ICC em estágios avançados têm em 1 ano índice de mortalidade de 40% a 50%. O índice de mortalidade nos portadores de ICC leve e moderada é de 15% a 25%. Exatamente por isso a cardiotoxicidade específica que se desenvolve com doses cumulativas dessas drogas, principalmente a doxorubicina, é o maior fator limitante para tratamentos a longo prazo. Desta forma, consideráveis esforços têm sido feitos para o desenvolvimento de novos análogos antracíclicos com as mesmas propriedades antineoplásicas da doxorubicina, mas com menor toxicidade miocárdica.

No início da década de oitenta, o foco foi direcionado para os análogos antracíclicos que apresentavam substituições na posição 4' da molécula de amino açúcar. Entre estes derivados a 4'-epi-doxorubicina e a 4 demetoxidaunorubicina, têm sido as mais utilizadas clinicamente (Cersosimo et al., 1986) e foram atribuídos menores efeitos cardiotoxícos, quando comparada com doses equimolares de doxorubicina, em dois estudos clínicos publicados por Young (1984 e 1985).

No modelo estudado anteriormente , a dose de doxorubicina de 25mg/kg, similar a dose de 600mg/m² em humanos (>20% da dose de 450mg/m²), causou cardiotoxicidade a partir da 4^a semana. As outras doses empregadas foram inferiores a 400mg/m² e não foram suficientes para induzir cardiotoxicidade. Tem sido demonstrado clínica (Doroshov et al., 1980; Gottdiener et al., 1992) e experimentalmente (Von Hoff et al., 1992) que o surgimento de cardiomiopatia está claramente relacionado ao total de exposição a dose cumulativas de antraciclina.

Doses repetidas dessas drogas resultam em um efeito somatório de lesões sobre o miocárdio, que tem sido relatado em todas elas, algumas com menores efeitos que outras, mas todas apresentando toxicidade cardíaca.

Estudos utilizando angiografia com radionuclídeos em pacientes recebendo quimioterapia com epirubicina e mitoxantrona, mostraram que 30% dos pacientes de ambos os grupos desenvolveram sinais de cardiotoxicidade usando doses maiores ou iguais a 1000mg/m² de epirubicina e 98mg/m² de mitoxantrona.

Jain e colaboradores (1985) analisando 54 mulheres portadoras de câncer de mama, que tinham recaído após quimioterapia combinada sem antracíclicos e que eram randomizadas para tratamento com doxo ou epirubicina, mostraram que a média de doses cumulativas em que ocorre falência cardíaca para doxorubicina e epirubicina é de 492 e 1134mg/m², respectivamente. A idarubicina, segundo Platel e colaboradores (1999) em estudo comparativo com a doxorubicina em modelo de coração de rato isolado e perfundido, mostrou menor toxicidade que a doxorubicina, no entanto, nas doses utilizadas de 0.5, 0.75 e 1.0mg/kg comparadas com 1, 2, 2.5 e 3mg/kg da doxorubicina, revelou que embora a idarubicina pareça possuir menor cardiotoxicidade intrínseca, com doses de idarubicina de 0.75mg/kg já foi possível observar sinais evidentes de dano ao cardiomiócito.

Deste modo, utilizamos doses equimolares e equimielotóxicas dos diferentes análogos, semelhantes as utilizadas na clínica, comparando-os com a doxorubicina, que é a droga padrão. A dose de epirubicina foi de ~1200mg/m² (50mg/kg), a de idarubicina ~480mg/m² (20mg/kg) e ~192mg/m² (8mg/kg). para a mitoxantrona

Bertalozzi e colaboradores (1979) desenvolveram o primeiro modelo de cardiomiopatia crônica induzido por doxorubicina em camundongos. Fêmeas recebiam doses de 1, 2 ou 4mg/kg de doxorubicina 2x/semana (com um intervalo de 2 semanas após as primeiras 4 doses) num total de 10 doses. Nas doses mais baixas, foi observado vacuolização de miócitos. Com altas doses, as lesões foram mais severas (perda de miofibrilas, miocitólise, atrofia e necrose acompanhada de proliferação do tecido conjuntivo) e a dose cumulativa média foi de 36,4mg/kg. Além disso, em altas doses, também foram encontradas lesões no fígado, rim e baço.

Estes achados são semelhantes aos nossos, em que observamos além de alterações histopatológicas semelhantes, aumento nos índices cardíaco, hepático, esplênico e renal, quando foram utilizadas altas doses (Costa, 1996).

Quando excedemos a dose inicial de 4,1mg/kg/dose para 6,25 e depois para 8,3mg/kg/dose por 12 semanas, as lesões nos animais que receberam apenas doxorubicina foram significativamente mais graves, com um alto índice de mortalidade naquele grupo que não recebeu agente cardioprotetor, impossibilitando a conclusão do estudo nas 12 semanas previstas inicialmente.

Outros regimes com doses excedentes em camundongos têm sido reportados (Ferrans et al., 1992) e de acordo com dados recentes parece que o presente estudo é o primeiro na literatura a utilizar doses excedentes em ratos.

Vários modelos animais reproduzindo as alterações morfológicas, bioquímicas e da função cardíaca, têm sido descritos e usados para avaliação de novos análogos e agentes cardioprotetores (Doroshov et al., 1979; Solcia et al., 1981). Entretanto muitos dos métodos propostos são de difícil aplicação, devido ao tamanho (grande) dos animais utilizados (cachorro, macaco e coelho) ou aos longos intervalos requeridos para o desenvolvimento de cardiomiopatia. Um esquema de tratamento para análise da cardiotoxicidade induzida por antracíclicos em ratos, com métodos para avaliação funcional e morfológica das alterações miocárdicas e outras toxicidades não-cardíacas foram desenvolvidas neste estudo, a fim de possibilitar sua aplicação aos análogos da doxorubicina mais utilizados na clínica (Costa, 1996).

Em humanos, a cardiomiopatia, é uma síndrome caracterizada por alterações agudas e crônicas. A cardiotoxicidade aguda, consiste em alterações eletrocardiográficas transitórias (Von Hoff et al., 1982) e disfunção transitória do ventrículo esquerdo que pode surgir horas ou dias após o início do tratamento (Balcueva et al., 1978; Villani et al., 1979). As alterações crônicas caracterizam-se por um cardiomiopatia tardia decorrente de lesões cumulativas subclínicas.

Neste estudo, além de termos reproduzido facilmente as alterações observadas nas síndromes clínicas; as alterações eletrocardiográficas, morfológicas e funcionais demonstraram que este modelo reproduziu ambos os efeitos cardiotoxícos, agudos e crônicos, observados na terapêutica com análogos antracíclicos.

As alterações eletrocardiográficas consistiram em um prolongamento de SaT e QaT (Villani et al. 1986) acompanhados de diminuição da contratilidade miocárdica, semelhante ao descrito na literatura (Monti et al. , 1986). Foram utilizadas duas variáveis : duração do segmento QT, que foi corrigida pela frequência cardíaca (QTc), e a voltagem do complexo QRS, tendo sido utilizadas para medidas comparativas as derivações D2 e V1. Esses parâmetros são aceitos como indicadores de cardiotoxicidade tanto em humanos (Lena, 1976; Ali, 1979), como em ratos (Agen et al., 1992; Saskia et al., 1995).

O surgimento das alterações eletrocardiográficas foi tempo e dose dependente, para animais tratados com doxorubicina nas dose cardiotoxíca convencional, como já tinha sido demonstrado em trabalhos anteriores, e aqueles

que receberam doses excedentes (800 e 1000mg/m²), sendo que as alterações eletrocardiográficas não se modificavam com o aumento nas doses. Em 80% dos animais tratados com as doses de 25, 37.5 e 40mg/kg/dose total houve prolongamento do intervalo QT e diminuição na amplitude do complexo QRS, mensurados nas derivações D2 e V1. Não se observaram alterações no segmento PR ou arritmias. A posição do eixo elétrico não se modificou significativamente e, portanto, não foi levada em consideração. O prolongamento do intervalo QT observado no traçado eletrocardiográfico desses animais sugere comprometimento do sistema de condução (Ali et al. 1979) e a diminuição da amplitude do complexo QRS aponta para comprometimento da musculatura cardíaca (Isner et.al., 1983).

Nos animais tratados com epirubicina, as alterações só surgiram com doses de ~1200mg/m² e a alteração mais significativa foi o prolongamento do segmento QT. Houve redução na voltagem do complexo QRS, que não foi significativa estatisticamente.

Dos 2 grupos que receberam idarubicina nas doses de 10 e 20mg/kg, apenas os animais que receberam 20mg/kg apresentaram alterações no ECG, mas que não foram significantes.

Os animais tratados com mitoxantrona na dose de 8mg/kg (~192mg/m²), semelhante a epirubicina, apresentaram prolongamento do segmento QT e embora também tenham apresentado redução da voltagem do QRS, os resultados não foram significativos.

Embora as alterações eletrocardiográficas sejam bastantes fidedignas, o seu surgimento é tardio e implica em disfunção cardíaca estabelecida. Desta forma, excetuando-se um evento de cardiotoxicidade aguda, que pode ser coincidentemente monitorizado eletrocardiograficamente, a mensuração eletrocardiográfica tem valor apenas na detecção da cardiotoxicidade crônica e/ou ausência de lesões, quando o efeito cardioprotetor de drogas como o ICRF-187, talidomida e pentoxifilina (Costa, 1996) podem ser demonstrados.

As alterações eletrocardiográficas são bastante utilizadas na prática clínica para predizer lesão cardíaca, entretanto, o um método melhor para detectar cardiotoxicidade em estágios precoces, era um problema que necessitava ser resolvido. No presente trabalho a utilização de marcadores bioquímicos como troponina T e CK-MB, conseguiu de forma estatisticamente significativa detectar as lesões cardíacas induzidas por doxorubicina e análogos, quando comparados a outros métodos como ecocardiograma e análise histopatológica.

A biópsia endomiocárdica, embora considerada o método mais sensível e específico, tem seu uso limitado por ser um método invasivo e de difícil execução técnica.

Na prática diária, os oncologistas têm utilizado parâmetros que avaliam a função cardíaca, através da fração de ejeção do VE mensurada através de ecocardiografia, para detectar cardiotoxicidade; mas este método não é capaz de identificá-la precocemente. Baseados na evolução dos conhecimentos sobre a fisiopatologia da cardiotoxicidade induzida por antracíclicos e da Insuficiência

Cardíaca, novos métodos, como: parâmetros para determinação da função diastólica, cintilografia com anticorpo anti-miosina e determinação dos marcadores bioquímicos, tem sido proposto para identificar precocemente pacientes com alto risco de desenvolver lesão cardíaca.

Antes de iniciar protocolos quimioterápicos com antraciclinas, ficou convencionado a avaliação prévia, e após cada ciclo da função ventricular, pelo menos através de ecocardiograma bidimensional com doppler. Deste modo é possível detectar pacientes com reduções subclínicas da função cardíaca ou o aparecimento de disfunção em indivíduos previamente normais.

Em nossos estudos devido ao reduzido tamanho cardíaco do animal, calculamos o $\% \Delta D$, ou seja, a fração de encurtamento do VE, que tem o mesmo valor da FEVE em humanos (Fortuin, 1971; Crawford, 1976; Delgado, 1975; Gutgesell, 1977).

Nos animais tratados com doses excedentes de doxorubicina, os valores para o $\% \Delta D$ variaram entre 40 e 35%, com valor médio de $38 \pm 2\%$, significando uma redução da fração de encurtamento em cerca de 50%, quando comparado com o valor médio normal. Considerando-se que uma redução de 35% no $\% \Delta D$ em humanos é clinicamente compatível com ICC classe II (SMITH et al., 1993), como era esperado nestes animais houve comprometimento funcional bastante acentuado. Reforçando esta hipótese, achados clínicos compatíveis com severa ICC foram observados, entre eles: hepatoesplenomegalia, dispnéia, ascite volumosa em > 60%

dos casos, perda ponderal com sinais de caquexia e redução da atividade motora e mortalidade maciça antes do término do estudo, foram observados.

O grupo tratado com epirubicina, mostrou uma média de redução de 40% no $\% \Delta D$, enquanto que nos animais tratados com idarubicina e mitoxantrona apesar de terem havido reduções na ordem de 18 e 25%, respectivamente, elas não foram indicativas de insuficiência cardíaca, quando comparadas ao controle positivo.

A importância do estudo ecocardiográfico, deve-se ao fato de ser um método não invasivo para análise do comportamento da função ventricular, apresentando um alto grau de correlação, tanto com parâmetros obtidos *in vivo*, como o eletrocardiograma, níveis séricos de marcadores bioquímicos, quanto com os obtidos *post mortem*, como o estudo dos índices cardíacos, e análise histopatológica.

A terapêutica com antraciclina pode induzir injúria miocárdica subaguda, causando lise em um limitado número de miócitos ou eles que podem apresentar alterações transitórias na integridade de suas membranas. Ambas as condições podem ocasionar um efluxo plasmático de pequenas quantidades de enzimas citoplasmáticas e outras proteínas específicas das fibras musculares cardíacas (Mortensen et al., 1986; Caulfield et al., 1988).

A troponina T (TnT) é altamente sensível para detectar necrose miocárdica, em adultos, após exercícios intensos (maratonistas), ou em pacientes com angina instável (Mair et al., 1992; Hamm et al., 1992). A liberação de troponina T é iniciada 24 horas após injúria miocárdica, como por exemplo após infarto com reperfusão

precoce. Os níveis de troponina T permanecem aumentados por vários dias (Katus et al., 1991). Em um estudo realizado em modelo animal (rato) a administração de antraciclina estava associada com a liberação de TnT na circulação e os seus elevados níveis plasmáticos foram correlacionados com a toxicidade clínica (Seino et al., 1993).

Mensuramos os níveis séricos de Troponina T (TnT) e fizemos uma correlação com os achados eletrocardiográficos, ecocardiográficos e histopatológicos, anteriormente utilizados na abordagem da cardiotoxicidade em nosso modelo. A determinação da troponina T com o "kit teste" originalmente desenvolvido para soro humano, foi possível com o anticorpo usado, por causa da reação cruzada demonstrada entre a troponina T humana e de rato (Katus et al., 1992).

Coletamos o sangue dos animais de cada grupo antes de iniciar o tratamento, de forma que cada grupo foi o seu próprio controle. Antes do tratamento a média dos níveis séricos de TnT foi de 0,01 ng/ml e um significativo aumento foi observado em animais tratados com a doxorubicina. Os resultados mostram uma elevação nos níveis de troponina T de 30 a 40 vezes acima dos valores normais e esses valores são comparados aos observados no infarto agudo do miocárdio em seres humanos (Puschendorf, 1992). Desta forma, demonstramos que as lesões cardíacas induzidas pelo tratamento com doxorubicina e análogos antracíclicos, semelhante aos esquemas utilizados em humanos, podem ser monitorizadas através dos níveis séricos de TnT. Quando comparamos os níveis de TnT com as alterações histopatológicas observamos um alto coeficiente de correlação $R=0.96$ ($p<0.05$)

entre os achados, que pode ser explicado por perda de TnT decorrente da injúria à célula miocárdica, causando elevação nos níveis séricos desta proteína.

Nos miócitos humanos, a maior parte da troponina T encontra-se nos miofilamentos contráteis e 6% existe como uma reserva citoplasmática, que está em equilíbrio com a forma miofibrilar. Provavelmente a forma citosólica da TnT, deve ser inicialmente liberada de miócitos lesados pelos antracíclicos, semelhante ao que ocorre com os miócitos submetidos a isquemia (Carter et al., 1975), sendo a forma miofilamentar responsável pela elevação tardia dos níveis séricos desta proteína.

A perda de troponina T pelos miócitos pode estar relacionada a lise miofibrilar e as alterações da membrana plasmática causada pela doxorubicina e seus análogos. A lise miofibrilar é dependente de diversos processo coexistentes incluindo: inibição da síntese protéica, diminuição da expressão de proteínas músculo específicas, arranjo inadequado dos sarcômeros e aumento da degradação dos componentes miofibrilares, conforme tem sido mostrado em estudos que mostram correlação entre estas alterações morfo-funcionais e a disfunção cardíaca observada na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (Billingham et al., 1991).

Conforme demonstrado por Fink e colaboradores (1995) não foi observado elevação nos níveis séricos de TnT em crianças que tinham sido tratadas com 3 a 5 cursos de quimioterapia com antracíclicos. Em outro estudo, Ottlinger e colaboradores (1995) acharam níveis aumentados, mas sem uma elevação significativa. Também em crianças, Lipshultz e colaboradores (1997) reportaram que discretas elevações nos níveis de TnT após uma dose inicial de doxorubicina seria

capaz de predizer subsequente risco de lesão miocárdica. Em contrapartida, semelhante aos nossos resultados em que observamos elevação significativa da TnT em todos os animais tratados com antracíclicos, Seino e colaboradores (1993) mostrou elevadas concentrações séricas de TnT em ratos espontaneamente hipertensos (SHRs) recebendo uma dose semanal de 1.5mg/kg de doxorubicina.

Diante do exposto, podemos afirmar que a utilização dos níveis séricos de TnT na detecção de precoce e tardia de cardiotoxicidade em ratos, trata-se de um método tecnicamente simples, não invasivo e de alta sensibilidade e especificidade.

Nos grupos de animais que receberam doses excedentes de doxorubicina e foram tratados com talidomida e pentoxifilina, assim como nos grupos que receberam epirubicina, idarubicina e mitoxantrona e o mesmo tratamento, observou-se uma redução significativa nos níveis séricos desta proteína, indicando provavelmente que estas drogas podem ter um papel na preservação da estrutura miofibrilar durante a injúria tóxica ao miócito cardíaco.

Além da troponina T, nós utilizamos dois outros marcadores bioquímicos para avaliar a cardiotoxicidade : CK-MB e LDH. Um significativo aumento da atividade da isoenzima CK-MB foi observado no soro (cerca de 3 vezes a média obtida para os controles) tanto dos animais tratados com doses excedentes de doxorubicina, quanto naqueles tratados com epirubicina, idarubicina e mitoxantrona. Esta relação indica que a elevação na atividade desta isoenzima, resulta de sua liberação pelos cardiomiócitos lesados.

Estudos realizados em animais tratados com epirubicina, mostraram que os níveis séricos permaneciam geralmente mais elevados naqueles animais recebendo doses repetidas, do que naqueles que recebiam apenas dose única. Possivelmente o dano oxidativo causado por repetidas doses da droga, aumentam a atividade sérica da creatino-quinase (CK) com simultânea elevação do sua isoenzima a CK-MB.

Observamos os mesmos resultados acima descritos, quando determinamos os valores séricos de LDH. Este marcador bioquímico, não teria muita utilidade como fator preditivo de cardiotoxicidade em humanos recebendo quimioterapia antineoplásica, porque a própria expansão tumoral libera LDH das células neoplásicas em multiplicação. No entanto, estudos em ratos, têm mostrado que o LDH, pode ser um marcador fidedigno da cardiotoxicidade experimental (O'Brien et al. 1997).

O ensaio (ELISA) utilizado para detectar TnT mostrou ser efetivo na detecção da injúria cardíaca induzida por doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona em ratos. A elevação sérica desses indicadores na presença de injúria tóxica ao miócito, podem ser utilizados na avaliação de diversas estratégias para abordagem da cardiotoxicidade experimental. Nossos achados mostram que as elevações desses marcadores são indicadores efetivos da ocorrência e severidade da lesão miocárdica induzida por análogos antracíclicos.

O uso da troponina T (Herman et al., 1998), CK-MB (Baral et al., 1994) e LDH (Howard et al., 1998) em modelo experimental, têm demonstrado que eles são marcadores que têm alta especificidade, sensibilidade e reprodutibilidade, devendo

portanto ser mais utilizados na avaliação clínica do paciente antes, durante e após de terapêutica com antracíclicos, já que parecem possuir a capacidade de predizer o dano ao cardiomiócito tanto na cardiotoxicidade aguda, quanto crônica.

Em nosso estudo a mensuração dos níveis séricos destes foi capaz de predizer a evolução para cardiotoxicidade e demonstrar a eficácia das drogas utilizadas como agentes cardioprotetores.

Passados trinta anos desde a descoberta original da doxorubicina e daunorubicina, milhares de análogos antracíclicos foram sintetizados e testados na tentativa de identificar compostos superiores às drogas originais em termos de eficácia terapêutica aumentada, reduzida toxicidade, ou ambas. Alguns pesquisadores mostraram que pequenas modificações na estrutura das antraciclina poderiam resultar não só em agentes ativos, mas, mais importante, em análogos com cardiotoxicidade reduzida e atividade sobre multi-resistência às drogas. O fato do análogo 4 demetoxidaunorubicina ter mostrado potência mais alta que a daunorubicina e um cardiotoxicidade reduzida, incitou a exploração de novos análogos produzidos por alterações no sistema da antraquinona, particularmente do anel B (Surato et al. , 1999).

Surgiram então drogas como a epirubicina, um epímero da doxorubicina, sintetizada por Arcamone e col. em 1975, seguidas da esorubicina (4' deoxiadriamicina), sintetizada em 1976 e da idarubicina, que possui uma modificação no anel D da molécula de antraquinona, e também sintetizada no mesmo ano; sendo a idarubicina disponível para uso oral (Weiss et al., 1986).

Nos estudos pré-clínicos, não foi observado toxicidade miocárdica associada a terapêutica com antraciclina, entretanto ela foi detectada precocemente nos estudos clínicos conduzidos com a doxorubicina (Lefrak et al., 1973) e daunorubicina (Tan et al., 1967). A incidência de cardiomiopatia crônica aumenta marcadamente quando são utilizadas doses cumulativas acima de 500mg/m² (Von Hoff et al., 1979; Ferrans et al., 1983). As duas principais alterações morfológicas observadas no miocárdio de pacientes tratados com doxorubicina e análogos antracíclicos são a dilatação do retículo sarcoplasmático e perda das miofibrilas pelos miócitos cardíacos (Ferrans et al., 1978). O grau com que essas alterações ocorrem têm sido mensurados semi-quantitativamente por vários modelos de escores, sendo que o mais extensamente usado é o desenvolvido por Billingham (Billingham, 1991).

A importância clínica da cardiotoxicidade aguda e crônica induzida por antraciclina tem estimulado o desenvolvimento de modelos animais desta síndrome. Alguns estudos tinham usado regimes em que os animais eram tratados com única ou múltiplas doses altas de antraciclina. Com este tipo de regime de tratamento, a toxicidade gastrointestinal e a mielotoxicidade produzem morte dos animais antes que as alterações miocárdicas se estabeleçam. Deste modo, estudos em que são utilizadas altas doses de antracíclicos, não se prestam ao estudo da cardiotoxicidade crônica. Em contrapartida, o fracionamento em pequenas e repetidas doses (doses individuais < 20% que a dose letal) resultou em alterações miocárdicas crônicas, que se desenvolveram gradualmente semanas ou meses após a utilização das drogas (Costa, 1996; Ferrans et al., 1998). As modificações induzidas nos miócitos por este regime de tratamento mostrou ser morfológicamente

similar aquelas que ocorrem em pacientes que recebem quimioterapia com antracíclicos.

Estudos explorando a possibilidade que certos agentes teriam de proteger o miocárdio foram iniciados uma vez que modelos animais apropriados de cardiotoxicidade induzida por antracíclicos haviam sido desenvolvidos (Costa, 1996).

As vantagens e desvantagens desses modelos animais diferem de acordo com a espécie: animais pequenos podem ser utilizados em estudos comparativos de análogos antracíclicos e/ou agentes cardioprotetores, que podem ser avaliados apenas de forma limitada, animais maiores permitem um melhor acesso a função cardíaca e também têm melhores acessos para infusão endovenosa de drogas e coleta de sangue para exames (Ferrans et al. 1998).

Mettler e colaboradores (1977) observaram ratos Fischer que recebiam doses semanais de 1 a 2mg/kg de doxorubicina durante 10 a 14 semanas e desenvolviam insuficiência cardíaca congestiva. O exame histopatológico desses animais, mostrou degeneração, vacuolização, edema intersticial e fibrose moderada dos miócitos. Nossos experimentos anteriores e estudos subseqüentes confirmaram estes achados em outras espécies de ratos (Costa, 1996; Ferrans et al., 1992).

Em outro estudo (Herman et al., 1985) a severidade da cardiotoxicidade crônica induzida por doxorubicina em ratos machos adultos espontaneamente hipertensos (SHRs) e em ratos geneticamente normotensos (ratos Wistar - Kyoto), foi comparada e não houve diferenças entre as espécies. Entretanto, para cada um dos três níveis de doses (0,25; 0,5 e 1,0mg/kg/semanal por 12 semanas), os ratos

SHRs mostraram se mais sensíveis aos efeitos cardiotoxicos que os ratos Wistar-Kyoto. Por causa da sensibilidade aumentada e o alto grau de reprodutibilidade das lesões cardíacas, os ratos SHRs são mais utilizados que outras espécies como modelo animal na cardiotoxicidade experimental induzida por antracíclicos. Nossos estudos entretanto, mostraram que com a espécie Wistar, podemos também ter um modelo com as mesmas características já citadas.

A lesão induzida por doxorubicina ao miócito cardíaco, nos ratos SHRs, parece estar associada a certas alterações imunológicas (Zhang et al., 1993). O número de células efetoras imunológicas, estavam significativamente elevados de forma dose-dependente (aumento de 3 para 12 mg/kg na dose de doxorubicina) neste estudo. Em nossos experimentos, quando utilizamos doses excedentes ($\sim 800\text{mg/m}^2$) a dose cardiotoxica convencional, observamos presença de infiltração miocárdica por células inflamatórias (macrófagos, linfócitos e em menor quantidade neutrófilos) conforme pode ser visto nas fotografias representativas das lesões histopatológicas. Ratos espontaneamente hipertensos (SRHs) que receberam ICRF juntamente com doxorubicina, tinham significativamente menor quantidade de células efetoras imunológica no miocárdio do que os animais que receberam apenas doxorubicina. Isto parece demonstrar que a cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina está associada com a liberação de substâncias que iniciam uma resposta imune envolvendo células apresentadoras de antígenos e que estas reações são reduzidas como resultado da atividade cardioprotetora exercida pelo ICRF e outras substâncias com atividade semelhante, como foi demonstrado em nossos estudos anteriores nos quais a talidomida e pentoxifilina pareciam exercer efeito similar (Costa, 1996).

Como enfocado por Ribeiro e Brito (1999), uma resposta efetiva do hospedeiro a infecção ou dano tecidual, requer um acúmulo focal de neutrófilos e outras células inflamatórias. Eles têm o papel de fagocitar agentes lesivos, matar bactérias e degradar tecidos e agentes estranhos, além de terem um papel central no aumento da permeabilidade vascular, contribuindo para formação do exsudato e edema. Em decorrência de todas essas funções, estas células além do seu potencial benéfico, podem prolongar o fenômeno inflamatório e induzir dano tecidual por liberação de enzimas, mediadores químicos e intermediários reativos do oxigênio e do nitrogênio (radicais livres). Em nossos estudos o efeito cardioprotetor da talidomida e pentoxifilina nos levou a pensar no possível envolvimento do TNF- α na patogênese da toxicidade cardíaca. É provável que inicialmente a doxorubicina atue sobre a célula miocárdica produzindo intermediários reativos do oxigênio, que por sua vez se ligarão ao Ferro III. Esta via pode ser inibida por agentes antioxidantes tais como o ICRF-187 e pentoxifilina.

Nossos resultados atuais mostram que animais tratados por um período mais longo (12 semanas), apresentaram infiltração miocárdica por células inflamatórias. Provavelmente as repetidas injúrias tóxicas ao miocárdio, ocasionadas por várias doses da droga, além de provocar uma liberação de intermediários reativos de oxigênio que lesam diretamente a célula cardíaca através de peroxidação dos fosfolípidos das membranas nucleares e mitocondriais. Estas reações ou ocorrem em paralelo ou podem levar a uma reação inflamatória crônica com recrutamento de células, que através de vários mediadores da inflamação, como o TNF- α , levariam ao dano irreversível ao tecido cardíaco resultando em Insuficiência Cardíaca

Congestiva, o que explicaria em parte, a efetividade da talidomida e pentoxifilina como agentes cardioprotetores.

Efeitos tóxicos não cardíacos decorrentes da administração crônica da doxorubicina (1mg/kg/semanal por 12 semanas) em ratos SHRs, inclui perda de peso corporal e nefropatia.

Quando avaliamos a curva ponderal dos grupos tratados apenas com antracíclicos, observamos que semelhante a doxorubicina, o tratamento com epi, ida e mitoxantrona, ocasionava déficit ponderal significativo, quando comparados ao grupo controle. Os fatores implicados na perda ponderal, provavelmente estão relacionados a toxicidade das drogas sobre o trato gastrintestinal, caracterizada por evidências de mucosite, como diarréia acompanhada de fezes muco-sanguinolentas. Essas alterações levam à caquexia, que é mantida pela redução na ingesta calórica, mal absorção de nutrientes e liberação de oxigênio aos tecidos, em decorrência do estado catabólico determinado pela insuficiência cardíaca (Pittman et al., 1964; Carr et al., 1989; Levine et al., 1990; McMurray et al., 1991).

O pré-tratamento com o ICRF na dose de 25mg/kg, reduziu ambos os efeitos. O mesmo foi observado em nosso modelo, onde além de termos observados os mesmo efeitos com o ICRF, obtivemos efeitos similares utilizando a talidomida e pentoxifilina, mesmo quando doses excedentes (6,25 e 12mg/kg semanais) a dose cardiotoxicológica convencional foram utilizadas.

Zhang e colaboradores (1996), usando o mesmo protocolo experimental, detectou significativa toxicidade miocárdica, renal e intestinal em ratos SHRs após doses cumulativas de 9 e 12mg/kg. Essas alterações ocorreram em associação com apoptose de células epiteliais do intestino e células dos túbulos renais, mas não foram observadas nos cardiomiócitos. A frequência da apoptose doxo-induzida nas células epiteliais do intestino e do rim, foram significativamente reduzidas pelo pré-tratamento com o ICRF. Esses achados sugerem que uma diminuição na frequência de apoptose pode ser um dos efeitos protetores do ICRF sobre a toxicidade não-cardíaca induzida pela doxorubicina.

A quelação intracelular de ferro é o mecanismo potencial pelo qual o ICRF atenua os efeitos cardiotóxicos induzidos pela doxorubicina. Pensa-se que a doxorubicina inicia o dano ao miócito através da formação de um complexo com o ferro que é capaz de gerar espécies reativas de oxigênio (Gianni et al., 1992). Por causa de sua natureza não polar, o ICRF penetra rapidamente na célula e é hidrolizado em uma molécula com um anel diácido-diamino aberto (ADR-925), que é capaz de quelar o ferro. Hasinoff (1990) mostrou em seus dois estudos que o ADR-925 é capaz de remover o ferro do complexo ferro-doxorubicina. Têm sido realizados estudos comparativos analisando os efeitos protetores de uma variedade de compostos da bis-discetopiperazina (incluindo o ICRF-187) e outros quelantes do ferro (desferroxamina) sobre a toxicidade renal e cardíaca induzida pela doxorubicina em SHRs (Herman et al., 1992 e 1997). Em nosso estudo utilizamos a pentoxifilina (uma agente antioxidante) e a talidomida (imunomodulador) no pré-tratamento na tentativa de prevenir os mesmo efeitos tóxicos e obtivemos resultados similares utilizando o rato Wistar no modelo animal.

O ICRF-187 foi significativamente mais efetivo em prevenir a cardiotoxicidade e mortalidade induzida por doxorubicina do que ambas as preparações da desferrioxamina (mesilato de desferroxamina e a forma polimérica na qual a desferroxamina está ligada ao hidroxietilamina). Em nosso estudo, observamos que ambas, talidomida e pentoxifilina, foram capazes de inibir a cardiotoxicidade e reduzir significativamente a mortalidade nos animais tratados.

A epirubicina é um derivado da doxorubicina, caracterizado por maior espectro de atividade e melhores índices terapêuticos (Ganzina et al., 1985). Em estudos comparativos utilizando doses equimolares, a epirubicina mostrou induzir menos cardiotoxicidade do que a doxorubicina, em particular menos vômitos e menor mielotoxicidade (Ganzina e Di Pietro, 1985). Neste mesmo estudo, onde foram randomizadas mulheres portadoras de câncer de mama, a epirubicina provou ser menos cardiotóxica que a doxorubicina e os parâmetros utilizados para mensuração desta cardiotoxicidade foram cinecardiografia com radionuclídeos e avaliação histopatológica através de biópsia endomiocárdica. Os autores comentam que a menor cardiotoxicidade da epirubicina quando comparada com a doxorubicina, pode ser explicada por suas propriedades farmacocinéticas e metabólicas diferentes, como por exemplo clearance plasmático mais rápido e uma via adicional de metabolização por glicuronização.

Jain e colaboradores (1985), analisaram 54 pacientes com câncer de mama em estadio avançado, que tinham recaído após uma abordagem quimioterápica anterior sem antracíclicos em que utilizaram $85\text{mg}/\text{m}^2$ de epirubicina e $60\text{mg}/\text{m}^2$ de doxorubicina (EV) a cada 3 semanas. Das 18 pacientes tratadas com doxorubicina,

que apresentaram alterações na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), 28% (um total de 5 pacientes) desenvolveram insuficiência cardíaca grave e 26% (total de 4 pacientes) de 15 pacientes das tratadas com epirubicina apresentaram a mesma diminuição da FEVE e também desenvolveram ICC grave. A média de duração da resposta terapêutica no grupo tratado com epirubicina foi de 11.9 meses, contra 7,1 meses obtidos pelo tratamento com doxorubicina. Em outro estudo comparativo Villani e colaboradores (1983), analisaram 101 pacientes com câncer tratados com epirubicina, através de parâmetros eletro e ecocardiográficos, comparados a 78 pacientes tratados com doxorubicina. A dose máxima cumulativa de epirubicina foi $630\text{mg}/\text{m}^2$ e os resultados obtidos mostram menores efeitos cardiotóxicos agudos e crônicos que a doxorubicina.

Em nossos resultados, observamos que na curva dose-resposta da epirubicina, doses cumulativas de $500\text{mg}/\text{m}^2$, não foram suficientes para induzir alterações eletrocardiográficas, quando no entanto elevamos esta dose a doses equimolares equivalentes de doxorubicina, observamos que as alterações eletro e ecocardiográficas eram semelhantes, ou seja, os animais apresentavam prolongamento do intervalo QT, diminuição da voltagem do QRS e diminuição da fração de encurtamento do VE. Em um trabalho realizado por Pouna e colaboradores (1996) utilizando como modelo coração de rato isolado e perfundido, em que o estado contrátil do ventrículo esquerdo foi avaliado, ficou demonstrado que embora a epirubicina demonstre apresentar na clínica uma menor cardiotoxicidade, ambas doxorubicina e epirubicina têm a mesma cardiotoxicidade intrínseca. Isso parece ser verdadeiro, pois em nossos resultados, quando avaliamos a cardiotoxicidade aguda, mesurada por um parâmetro bioquímico como a troponina T,

verificamos que há aumento semelhante nos níveis séricos desta proteína em animais de ambos os grupos.

A epirubicina (4'-epi-doxorubicina - 4'-epi-DX - EPI) é um antibiótico antracíclico que difere da doxorubicina (DXR) pela epimerização de um grupamento OH na 4ª posição da molécula de amino açúcar, e foi sintetizada com o objetivo de ser um agente terapêutico superior a DXR. A epirubicina se liga ao DNA e inibe a síntese de ácidos nucleicos. A sua atividade antitumoral em vários tumores experimentais (Leucemias L 1210, P 388, Leucemia Gross, Sarcoma 180 sólido e ascítico, Carcinoma de mama C3H/HE) é similar a da doxorubicina. Entretanto a epirubicina, tem maior atividade antitumoral em Carcinoma Lewis de pulmão, metástases de sarcoma pulmonar MS-2 e melanoma maligno humano em ratos atímicos. Nos estudos de toxicidade crônica não houveram diferenças qualitativas entre a epirubicina e a DXR, entretanto, qualitativamente a EPI foi menos tóxica. Estudos realizados em camundongos com tumores, mostraram uma menor concentração de EPI no coração, baço e rins; o metabolismo hepatobiliar e a excreção investigados em ratos, indicaram que este análogo foi mais extensivamente metabolizado que a DXR.

Estudos farmacocinéticos em humanos, mostraram uma diminuição multiexponencial dos níveis plasmáticos da epirubicina; o mesmo achado foi observado para o seu metabolito o epidoxorubicinol, mas em concentrações mais baixas que as da droga original. O alto clearance plasmático (0.9 - 1.41/min), uma meia-vida de terminal de aproximadamente 30-40h e um grande volume de distribuição são as principais características da epirubicina. A redução da dose

parece ser apropriada em pacientes com comprometimento da função hepática (Lanza et al., 1989).

Os estudos de fase II, mostraram que a droga produz toxicidade aguda, incluindo toxicidade cardíaca, qualitativamente similar a DXR com doses idênticas. Os animais do nosso estudo, quando tratados com doses similares a da DXR, mostraram sinais de toxicidade aguda cardíaca, mensurada pelos níveis de troponina T, CK-MB e LDH; gastrintestinal, evidenciada pela diarreia mucosanguinolenta e perda ponderal aproximadamente 10% do peso corporal semanalmente e por fim mielotoxicidade evidenciada por leucopenia, anemia e plaquetopenia.

Em um estudo feito por Yeung e colaboradores (1989) foi comparada a toxicidade de uma única dose de epirubicina em ratos, administradas por via endovenosa (2-6mg/kg) ou intraperitoneal (4-8mg/kg). Estas doses produziram toxicidade aguda que foi caracterizada por redução transitória do peso corporal (<15%) nas primeiras 2 semanas após a administração da droga. Mensurações sequenciais do débito cardíaco em animais que receberam a droga EV, mostraram que as modificações tempo-dependente da função cardíaca eram bifásicas. Houve um declínio inicial do débito cardíaco nas primeiras 12 semanas, que foi acompanhado por uma fase de diminuição persistente do débito cardíaco entre a 12 e 20ª semanas. As alterações tempo-dependente da função cardíaca após doses administradas por via i.p. são mais variáveis. A recuperação da função cardíaca ocorreu em 20 semanas após uma dose i.p. de 4mg/kg; entretanto, após 6mg, a função cardíaca alterou significativamente após 16 semanas.

Um estudo de comprometimento da função cardíaca e incidência de mortalidade demonstrou que a epirubicina era mais cardiotoxicidade por via endovenosa.

Os nossos dados sobre o índice de mortalidade em animais tratados com esta droga, na dose de 50mg/kg, mostram uma moderada incidência, não diferente da encontrada por outros grupos; entretanto, as causas foram mais relacionadas a mielotoxicidade acompanhada de sangramento e infecção e mucosite do trato gastrintestinal, do que de causas cardíacas. As curvas de mortalidade tempo-dependente modificaram-se significativamente após o tratamento com talidomida e pentoxifilina, de forma que em grupos não tratados com essas drogas e recebendo apenas a epirubicina o "N" inicial era de 10 animais por grupo e estava reduzido a metade ao final das 2 primeiras semanas. O mesmo comportamento foi observado, quando analisamos as curvas de mortalidade da idarubicina e mitoxantrona.

A idarubicina (4-demetoxidanurubicina) (IDA) é um análogo da daunorubicina com substancial atividade sobre neoplasias hematológicas e tumores sólidos. Dentre várias razões, a IDA é de interesse devido a seu principal metabólito, um análogo alcóolico C-13 o idarubicinol (IDOL). Alguns estudos tem sugerido que o IDOL, diferente de outros metabólitos derivados das antraciclinas, possui uma extraordinária atividade inibitória do crescimento em linhagens de células tumorais. (Toffoli et al. , 1997). Isto sugere que o IDOL, semelhante a IDA pode ser utilizado para evitar MDR (resistência a múltiplas drogas). A IDA é disponível para uso oral. Após administração oral, a concentração de IDOL rapidamente excede a da IDA e permanece no plasma por longos períodos. Deste modo, a administração de IDA a

pacientes com câncer resulta em uma exposição muito maior do tumor ao IDOL, do que a própria droga original.

Num estudo publicado pelo Oncology Center in Aviano (CRO), foi realizado um estudo farmacocinético com administração crônica diária de idarubicina para tratamento de câncer de mama. Todos os pacientes eram pré-tratados com outras antraciclinas (dose cumulativa de 530mg e 264mg, respectivamente, para epirubicina e doxorubicina e tinham na admissão Fração de ejeção do ventrículo esquerdo > 50%). A IDA (cápsulas de 1mg) era administrada oralmente 2 vezes ao dia por 21 dias a cada 2 semanas. O tratamento foi continuado com escalonamento de doses até progressão ou intolerância. Vinte e cinco pacientes foram recrutados. Os resultados mostraram que apesar do tratamento prévio com outras antraciclinas, não foi observado cardiotoxicidade decorrente à administração de IDA. Na dose reportada o tratamento foi geralmente bem tolerado. Esses achados, embora clínicos, combinam com os observados em nosso estudo, onde apesar de termos usado altas doses cumulativas de IDA, não obtivemos alterações eletro e ecocardiográficas sugestivas de comprometimento severo da função cardíaca. No entanto o tratamento com a IDA, não foi isento de toxicidade aguda, para o próprio miocárdio, pois observamos elevações nos níveis séricos da troponina T, CK-MB e LDH. Foram observados também, semelhante a doxorubicina, epirubicina e mitoxantrona, elevação nos índices dos órgãos (fígado, baço e coração), mielotoxicidade traduzida por anemia, leucopenia e plaquetopenia e alterações na curva ponderal.

A idarubicina exibe características que a fazem ser única entre os antracíclicos. Por ser altamente lipofílica, chega rapidamente ao núcleo, tem uma capacidade superior de ligação ao DNA e conseqüentemente maior citotoxicidade se comparada a daunorubicina, sendo sua maior vantagem a referência a sua habilidade para vencer pelo menos parcialmente a resistência a múltiplas drogas (MDR) (Borchmann et al., 1997). Embora a idarubicina, seja uma importante droga no tratamento de leucemias agudas, linfomas, plasmocitomas, tumores sólidos e câncer de mama, ainda está sob investigação em vários estudos clínicos. Devido a menor incidência de cardiotoxicidade crônica decorrente da sua utilização, uma dose cumulativa potencialmente cardiotóxica, não foi ainda precisamente estabelecida.

A estimativa da incidência de cardiomiopatia IDA-relacionada em pacientes com leucemia mielóide aguda (LMA) e mielodisplasia (SMD), foi desenvolvido por Anderlini e colaboradores no M.D. Anderson Cancer Center. Foram analisados um grupo de 127 pacientes de LMA/SMD que receberam indução pós-remissão ou terapia de salvamento com idarubicina e alcançaram remissão completa (RC). A ICC foi definida como uma diminuição da fração ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) $<$ ou $=$ 45% mensurada por ventriculografia por radionucleotídeo acompanhada de diagnóstico clínico de ICC, em pacientes que tivessem feito durante ou dentro de 6 meses uso de idarubicina e sem qualquer outra causa aparente implicada na gênese da ICC. Sem a confirmação por ventriculografia o diagnóstico era considerado provável. Idade avançada ($>$ ou $=$ 70 anos), terapêutica anterior com doxorubicina/mitoxantrona (antraquinona), e doença cardíaca/hipertensão foram avaliadas como alto risco para o desenvolvimento de ICC. Foram recrutados 115 pacientes (idade média, 40 anos; dose média 96 mg/m²). Os resultados mostraram

que a probabilidade de cardiomiopatia IDA-relacionada era 5% numa dose cumulativa de IDA de 150 a 290 mg/m².

As antraquinonas (daunorubicina, idarubicina e mitoxantrona) produzem muito menos radicais hidroxila do que a doxorubicina e epirubicina.

Quando analisamos os grupos que foram tratados com mitoxantrona, observamos que houve surgimento de alterações eletrocardiográficas sugestivas de cardiotoxicidade de forma dose-dependente (prolongamento do segmento QT e diminuição da voltagem do QRS, este último de forma não significativa estatisticamente). Quando analisamos os parâmetros ecocardiográficos, observamos que neste grupo houve uma redução da fração de encurtamento do VE quando comparado ao controle, estatisticamente significativa.

As toxicidades agudas neste grupo, não diferiram das já citadas para os grupos anteriores, ou seja, elevação nos níveis séricos dos marcadores bioquímicos, diminuição do ganho ponderal, elevação dos índices dos órgãos (coração, fígado e baço) e mielotoxicidade (anemia, leucopenia e plaquetopenia). Todas essas alterações foram revertidas, quando tratamos os animais com talidomida e pentoxifilina.

Em estudo realizado por Shipp e colaboradores utilizando cultura de células miocárdicas de ratos recém-nascidos, os miócitos foram tratados por 3 horas na presença ou ausência de uma quelante de metal (ICR-187). Estes estudos mostraram que o ICRF-187 confere proteção parcial para a cardiotoxicidade induzida pela mitoxantrona, porque o mecanismo pelo qual a mitoxantrona produz

cardiotoxicidade não é similar ao da doxorubicina, cuja cardiotoxicidade é inibida por um quelante do ferro.

No modelo animal anteriormente desenvolvido em nosso laboratório, adaptamos do escore proposto por Billingham, que utilizava mensuração de lesões ultra-estruturais através da microscopia eletrônica, um novo escore que pudesse mensurar lesão cardíaca através de análise por microscopia óptica. Um estudo morfométrico das alterações induzidas por doxorubicina em camundongos, realizado por Van der Vijgh e colaboradores (1988), foi muito similar ao nosso.

A análise histopatológica mostrou alterações na arquitetura miofibrilar, centralização nuclear, acompanhada de picnose e hipercromasia, presença de vacuolização citoplasmática distribuída de forma aleatória, além de padrão de congestão em pequenos e grandes vasos e edema epicárdico e pericárdico, nos animais tratados com doxorubicina em doses excedentes, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona.

Consideramos grau máximo de lesão as presenças de edema e congestão vascular, que foram pontuadas como ausentes (0) ou presentes (1), juntamente com picnose nuclear e vacuolização citoplasmática, quantificadas quanto a intensidade e a disposição, com valores que variaram de (0 a 3). Segundo estes critérios uma pontuação 3 significa lesão máxima, isto é, presença de edema, congestão vascular, picnose nuclear e vacuolização citoplasmática intensas e distribuídas difusamente. Os resultados foram expressos como médias das lesões de todos os parâmetros analisados.

Durante a análise histopatológica do coração de animais tratados com doses excedentes de doxorubicina, observamos uma infiltração miocárdica por células inflamatória, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos. Esta alteração não tinha sido evidenciada anteriormente, ou seja, com doses menores de doxorubicina. Bouhour e colaboradores em 1986, observaram três casos de miocardite linfocítica em animais tratados com mitoxantrona por via intraperitoneal. O mais provável mecanismo para este recrutamento, é que as repetidas injúrias tóxicas causem lesão endotelial na microcirculação cardíaca, a este nível começam a se expressar moléculas de adesão, que seriam um dos fatores responsáveis pelo recrutamento de células para as fibras miocárdicas. Em contrapartida, a peroxidação das membranas lipídicas, causando danos transitórios ou irreversíveis às membranas celulares, poderiam desencadear uma cascata de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e o TNF, ambos com atividade inotrópica negativa sobre a miofibrila e potencial para transformar a lesão inicial em fibrose cicatricial, fator fundamental no remodelamento do VE com surgimento de Insuficiência cardíaca.

O estudo comparativo dos parâmetros bioquímicos com as alterações eletro e ecocardiográficas, assim como com os índices das lesões histopatológicas, mostrou um alto grau de correlação entre estes parâmetros. Isso significa, que os marcadores bioquímicos conforme já mostrado em diversos estudos, podem ser utilizados como marcador da toxicidade cardíaca experimental e em humanos. Tratando-se de um método de fácil execução, reprodutibilidade e especificidade, além de não ser um procedimento invasivo para um paciente tão manipulado quanto o paciente portador de câncer.

A pentoxifilina tem sido utilizada em vários estudos como agente terapêutico no manuseio da insuficiência cardíaca por sua propriedade de inibir a produção de TNF- α (Kapadia et al., 1998) e também por sua ação antioxidante (Bergman, 1996).

Em nossos estudos pré-clínicos monitoramos a incidência e severidade do dano miocárdico induzido por antracíclicos, utilizando o rato como modelo animal. Este modelo é capaz de monitorar acuradamente, efetivamente e reproduzivelmente a cardiomiopatia e o efeito cardioprotetor de algumas drogas como a talidomida e pentoxifilina foi demonstrado em ensaios pré-clínicos (Costa, 1996; 1997; 1998) .

A utilização da pentoxifilina como agente protetor das injúrias pulmonares provocadas por radioterapia (Movsas et al., 1996), modulador da produção de TNF- α no miocárdio lesado (Bergaman, 1996), agente antioxidante na de injúria de reperfusão do miocárdio (Clark et al., 1999) e sua eficácia em previr a cardiomiopatia induzida por antracíclicos em nossos estudos pré-clínicos, motivaram a continuação dos nossos estudos com a proposição de administrar esta droga na tentativa de prevenir ou minorar as injúrias ao miocárdio produzidas pela administração de doxorubicina em pacientes submetidos a quimioterapia.

A pentoxifilina (Trental®) foi inicialmente utilizada para tratamento de pacientes com claudicação intermitente em pacientes portadores de doença arterial oclusiva crônica. No entanto desde a sua redescoberta como agente inibidor da síntese de TNF- α sua utilização tem sido ampliada para uma série de eventos onde

estão presentes as citocinas próinflamatórias (Weinand et al., 1999), no intuito de inibir sua produção e também como agente antioxidante (Freitas et al., 1995). Dentre estes estudos vale ressaltar sua utilização nas lesões necróticas de pele, após extravasamento de doxorubicina (Bekerecio et al., 1998) e no tratamento de sepsis em prematuros (Lauterbach et al., 1999).

Em nosso estudo utilizamos a pentoxiflina e a talidomida, em todos os grupos de animais, na dose de 60mg/kg/dia, e analisamos a eficácia de ambas, talidomida e pentoxiflina em inibir a lesão à célula miocárdica, através de marcadores bioquímicos de carditoxicidade como a Troponina T e CK-MB (Fink, 1995; BLEUEL, 1995) e através de parâmetros já consagrados como a análise eletro e ecocardiográfica. Dando seguimento ao estudo, após uma primeira fase em que analisamos a eficácia da talidomida e pentoxiflina, em inibir a carditoxicidade induzida por doxorubicina, através da utilização de doses mais elevadas do que as propostas como doses limites (450 mg/m^2), demos seguimento a estas avaliações só que fazendo uma comparação deste potencial cardioprotetor destas drogas frente a outros antracíclicos.

O racional para o uso da talidomida, é por sua conhecida ação imunomoduladora, atuando na síntese de várias citocinas, mas especialmente TNF- α que parece ser um dos mediadores implicados na lesão miocárdica induzida por doxorubicina.

Diante do exposto, parece provável que a lesão tóxica ao miócito, parece ser um somatório de eventos, envolvendo alguns eventos de fase aguda e outros de fase crônica. Possivelmente os eventos agudos estão relacionados as alterações na integridade das membranas celulares, causada por peroxidação lipídica e geração de espécies reativas de oxigênio. Repetidas injúrias tóxicas, diferente da lesão isquêmica onde acontece apenas um único evento, devem levar a alterações endoteliais da microcirculação cardíaca, levando a expressão de moléculas de adesão e transformando aquele endotélio em tecido inflamado, apto a recrutar células na tentativa de resolução do processo. Como sempre, a resolução da inflamação caminha invariavelmente para fibrose, e no caso do miocárdio a fibrose leva a uma perda na conformação estrutural do ventrículo esquerdo, ocasionando um fenômeno chamado de remodelamento ventricular, que é a alteração que a curto, médio ou longo prazo, evoluirá para Insuficiência Cardíaca Congestiva.

A indução de cardiotoxicidade experimental, utilizando os mais importantes análogos antracíclicos usados na prática clínica e sua inibição por talidomida e pentoxifilina assumem, têm 3 vertentes principais: 1) validação de um modelo animal, que pode ser utilizado em estudos pré-clínicos, com métodos de avaliação que além de serem de fácil execução são de grande sensibilidade e reprodutibilidade; 2) surgimento de duas drogas já amplamente utilizadas com outras finalidades, sendo uma delas (pentoxifilina) já utilizada como agente cardioprotetor; 3) introduzir estas drogas em protocolos, onde haja necessidade de utilizar doses de doxorubicina ou qualquer outro antracíclico, além da dose máxima recomendada como por exemplo recaída de câncer de mama metastático após tratamento e

Linfoma não-Hodgkin de intermediário ou alto grau, com necessidade de dar continuidade a protocolos com antracíclicos.

Conclusão

CONCLUSÃO

1. O modelo animal da cardiotoxicidade experimental induzida por doxorubicina, aplica-se aos análogos antracíclicos.
2. Em doses equimolares e equimielotóxicas, a cardiotoxicidade da doxorubicina, epirubicina, idarubicina e mitoxantrona, parecem ser similares, frente ao modelo utilizado.
3. A idarubicina não produziu alterações na função cardíaca que fossem sugestivas de insuficiência cardíaca, mas exibiu alterações compatíveis com cardiotoxicidade aguda.
4. Quando utilizados marcadores específicos de cardiotoxicidade como a troponina T e a CK-MB, todas as drogas utilizadas mostraram ser lesivas ao miócito cardíaco.
5. A talidomida e pentoxifilina, preveniram a cardiotoxicidade aguda e crônica induzida por análogos antracíclicos e por doses estendidas de doxorubicina.
6. A infiltração miocárdica por células inflamatórias, pode representar um papel central no esclarecimento da fisiopatologia da cardiotoxicidade induzida por antracíclicos.
7. A talidomida e pentoxifilina constituem drogas que podem ser testadas como cardioprotetores em protocolos clínicos.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGEN C, SIRONI AM, DANESI R, COSTA M, BERNARDINI N, PAPARELLI A, DELLA-TORRE, DEL-TACCA M.: Characterization of the toxicity of distamycin derivatives on cancer cell lines and rat heart. **Toxicology** 75(3): 209-19. 1992.

ALDERTON PM, GROSS J, GREEN MD.: Comparative study of doxorubicin, mitoxantrone, and epirubicin in combination with ICRF-187 (ADR-529) in a chronic cardiotoxicity animal model. **Cancer Res.** 52: 194-201, 1992.

ALEXANDER J, SPEYER J.: Cancer chemotherapy and cardiotoxicity. In philips, N.C., Hamilton, C. (eds): PA: Meniscus health care communications, 1996.

ALI MK, SOTO PA, MOROONGROGE D, et al.: Eletrocardiographic changes after Adriamycin chemotherapy. **Cancer**, 43: 465, 1979.

ALLEYASSINE H, TONKS DB.: Albumin-bound fluorescence: a potential source of error in fluorometric assay of creatine kinase BB isoenzyme. **Clin. Chem.**, 24:1849-1850, 1978.

ANDERLINI P, BENJAMIN RS, WONG FC, KANTARJIAN HM, ANDREEFF M, KORNBLAU SM, O'BRIEN S, MACKAY B, EWER MS, PIERCE SA, et al.: Idarubicin cardiotoxicity: a retrospective study in acute myeloid leukemia and myelodysplasia. **J Clin Oncol**: 13:2827-2834, 1995.

ANDERSSON BS, EKSBORG S, VIDAL RF, SUNDBERG M, CARLBERG M.: Anthraquinone-induced cell injury: acute toxicity of carminomycin, epirubicin, idarubicin and mitoxantrone in isolated cardiomyocytes. **Toxology.**, 135:11-20, 1999.

APPLE FS, TESCH PA.: CK and LD isozymes in human single muscle fibers in trained athletes. **J. Appl. Physiol.**, 66:2717-2720, 1989.

ARCAMONE F, CASSINELLI G, FANTINI G, GREIN A, OREZZI P, POL C, SPALLA C.: Adriamycin, - 14hydroxydaunomycin, a new antitumour antibiotic from *S. peuceetius* var. *caesius*. **Biotechnol. Bioeng.**, XI:1101-1110, 1969.

AREND WP, DAYER JM.: Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor [alpha] in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.** 38:151-160, 1995.

ARLIN Z, CASE JR DC, MOORE J, et al.: Radomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia (ANLL). **Leukemia.** 4:177-183, 1990.

AVIADO DM, PORTER JM.: Pentoxifylline: a new drug for the treatment of intermittent claudication. Mechanism of action, pharmacokinetics, clinical efficacy and adverse effects. **Pharmacotherapy**, 4: 297-307, 1984.

BALCUEVA E, SCHOIBERG C, MASUD K, DIMITROV N.: Determination of early adramycin induced cardiotoxicity by impedance cardiography. **In: Current Chemotherapy**, Siegenthaler R, Luthy R (eds), Am. Soc. Microbiol., Washington DC, pp. 1253-1255, 1978.

BALL, SC, SEPKOWITZ, KA, JACOBS, JL.: Thalidomide for treatment of oral aphthous ulcers in patients with human immunodeficiency virus: case report and review. **Am. J. Gastroenterol.**, 92:169-170, 1997.

BARAL R, LUO X, WATANABLE H, YAMASAWA I, IBUKIYAMA C.: Role of MB isoforms (isomers) in the early diagnosis of acute myocardial infarction. **Intern. Med.**, 33:210-215, 1994.

BARNHILL RL, DOLL NJ, MILLIKAN LE, et al.: Studies on the anti-inflammatory properties of talidomide: effects on polymorphonuclear leukocytes and monocytes. **J. Am. Acad. Dermatol.**, 11: 814-819, 1984.

BAYANA V, HENDERSON AR, Biochemical markers of myocardial damage. **Clin. Biochem.**, 28:1-29, 1995.

BEKEREKIO M, KUTLUHAN A, DEMIRTAS I, et al.: Prevention of adriamycin-induced skin necrosis with various free radical scavengers. **J. Surg. Res.**, 75(1):61-65, 1998.

BERGMAN E, et al.: Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytarabine arabinoside with daunorubicin and cytarabine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. **Blood**, 77: 1666-1674, 1991.

BERGMAN MR.: Pharmacological modulation of myocardial tumor necrosis factor alpha production by phosphodiesterase inhibitors. **J. Pharmacol Exp. Ther.** 279(1):247-254, 1996.

BERTAZOLLI C, BELLINI O, MAGRINI U, TOSANA MG.: Quantitative experimental evaluation of adriamycin cardiotoxicity in the mouse. **Cancer Treat. Rep.**, 63:1877-1883, 1979.

BESSIS D, GUILLOT B, MONPOINT S, et al. Thalidomide fo systemic lupus erythematosus. **Lancet.** 1992; 3339 : 549-550.

BHATTACHARYA S, LAHIRI A.: Clinical role of indium-111 antimyosin imaging. **Eur. J. Nucl. Med.**, 18:889-895, 1991.

BILLINGHAM ME, MASON JW, BRISTOW MR, DANIELS JR.: Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. **Cancer Treat. Rep.:** 62: 865-872: 1978.

BILLINGHAM ME.: Role of endomyocardial biopsy in diagnosis and treatment of heart disease, in Silver MD (ed): **Cardiovascular Pathology**, vol 2. New York, NY, Churchill Living-stone, pp. 1465-1486, 1991.

BLEUEL H, DESCHL U, BERTSCH T, et al.: Diagnostic efficacy on troponin T measurement in rats with experimental myocardial cell damage. **Exp. Toxic. Phatol.**, 47:121-127, 1997.

BONADONNA G, MONFARDINI S, DE LENA M, et al.: phase I and preliminary phase II evaluation of adriamycin (NSC 123127). **Cancer Res.** 30:2572-2582, 1970.

BONADONNA G, MONFARDINI S, DE LENA M, FOSSATI-BELLANI F.: Clinical evaluation of Adriamycin, a new antitumour antibiotic. **BMJ**, 3: 503-506, 1969.

BORCHMANN P, HUBEL K, SCHNELL R, ENGERT A.: Idarubicin: a brief overview on pharmacology and clinical use. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.:** 35(2):80-83, 1997.

BOUHOUB JB, CHIFFOLEAU S, DELAJARTRE AY.: Experimental study of the subacute toxicity of mitoxantrone and doxorubicin in rats (subcutaneous and/or intraperitoneal route). **Arch. Mal. Coeur Vaiss.**, 79(8):1238-1244, 1986.

BOYD JW.: Serum enzymes in the diagnosis of disease in man and animals. **J. Comp. Pathol.**, 98:381-404, 1988.

BRISTOW MR, MASON JW, BILLINGHAM ME, DANIELS JR.: Dose-effect and structure-function relationships in doxorubicin cardiomyopathy. **Am. Heart J.**, **102**: 709-18, 1981.

BRISTOW MR.: Toxic cardiomyopathy due to doxorubicin. **Hosp. Pract. (Off ed)**, **17**:101-108, 1982.

BUCKLEY MM, HARRIET ML.: A review of its pharmacological properties and clinical efficacy in the treatment of haematological malignancies and advanced breast cancer. **Drugs e Aging.** **11(1)**:61-86, 1997.

BURGER A, RICHTERICH R, AEBI H.: The heterogeneity of creatine kinase. **Biochem. Zeit.**, **339**:305-314, 1964.

CARDINET GH.: Skeletal muscle function. In JJ Kaneko (ed), **Clinical Biochemistry of domestic animals**. Academic Press, Inc., San Diego, Calif., pp. 462-495, 1989.

CARLSON R, WILLIAM R, BILLINGHAM M, et al.: Assessment of the cardiac toxicity of 4'-deoxydoxorubicin (DXDX) utilizing the endomyocardial biopsy score: The NCOG experience. **Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.**, **5**:520(abstract), 1986.

CARR JG, STEVENSON LW, WALDEN JA, HEBER D.: Prevalence and hemodynamic correlates of malnutrition in severe congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. **Am. J. Cardiol.**, **63**: 709, 1989.

CARTER SK.: Adriamycin - a review. **JNCI**, **55**: 1265-74, 1975.

CASAZZA AM, DI MARCO A, BERTZZOLI C, FORMELLI F, GIULIANI F, CAULFIELD JB, BITTNER V.: Cardiac matrix alterations induced by adramycin, **Am. J. Pathol.**, **133**:298-305, 1988.

CERSOSIMO RJ, KI HONG W.: Epirubicin: a review of the pharmacology, clinical activity, and adverse effects of an adriamycin analogue. **J. Clin. Oncol.**, 4:425-439, 1986.

CHRISTOPHER J, DUNN KAREN LG.: A review of its pharmacological properties and use in acute nonlymphoblastic leukaemia. **Drugs.** 9:122-147, 1996.

CLARK, S.C., SUDARSHAN, C. et al., Modulation of reperfusion injury after single lung transplantation by pentoxifylline, inositol polyanions, and sin-1. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, 117(3): 556-564, 1999.

COSTA PT.: Efeito de dexametasona, talidomida e pentoxifilina no desenvolvimento da cardiomiopatia crônica induzida por doxorubicina em ratos. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, 1996.

COTTIN Y, RIBUOT C, MAUPOIL V, GODIN D.: Early incidence of adriamycin on cardiac parameters in the rat. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 72(2): 140-5, 1994.

COTTIN Y, TOUZERY C, DALLOZ F, COUDERT B, et al.: Comparison of epirubicin and doxorubicin cardiotoxicity induced by low doses: evolution of the diastolic and systolic parameters studied by radionuclide angiography. **Clin. Cardiol.**, 21:665-670, 1998.

CRAWFORD MH, KARLINER JS, OROURKE RA, et al.: Favorable effects of oral maintenance digoxin therapy on left ventricular performance in normal subjects: Echocardiographic study. **Am.J. Cardiol.**, 38: 843, 1976.

CROSSLEY RJ.: Clinical safety and tolerance of mitoxantrone. **Semin. Oncol.**, 11 (3) Suppl. 1:54-58,1984.

CROSSLEY RJ.: Clinical safety and tolerance of mitoxantrone. **Semin. Oncol.** 22 (Suppl.1):11-13, 1995.

DARDIR M, HERMAN E, FERRANS V.: Effects of ICRF-187 on the cardiac and renal toxicity of apirubicin in spontaneous hypertensive rats. **Cancer Chemoter. Pharmacol.**, 23:269-275, 1989.

DELGADO CE, FORTUIN NJ, ROSS RS.: Acute effects of low doses of alcohol on left ventricular function by echocardiography. **Circulation**, 51: 537, 1975.

DENINE EP, SCHMIDT LH.: Adriamycin induced myopathies in the rhesus monkey with emphasis on cardiomyopathy. **Toxic. Appl. Pharmac.**, 33: 162, 1975.

DOBRIC S, DRAGOJEVIC-SIMIC V, BOKONJIC D, et al.: The efficacy of selenium, WR-2727, and their combination in the prevention of adriamycin-induced cardiotoxicity in rats. **J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.**, 17(3-4):291-299, 1998.

DOOD DA, ATKINSON JB, OLSON RD et al.: Doxorubicin-induced cardiomyopathy is associated with a decrease in calcium release channel of the sarcoplasmic reticulum in a chronic rabbit model. **J. Clin. Invest.**, 91: 1697, 1993.

DOROSHOW JH, LOCKER GY, MYERS CE.: Experimental animals models of adriamycin cardiotoxicity. **Cancer Treat. Rep.**, 63:855-860, 1979.

DOROSHOW JH, LOCKER GY, MYERS E.: Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites: Alterations produced by doxorubicin. **J. Clin. Invest.**, 65: 128, 1980.

DOROSHOW JH.: Effect of anthracycline antibiotics on oxygen free radical formation in rat heart. **Cancer Res.**, 43: 460-472, 1983.

DORR RT, LAGEL KE.: Anthracycline cardioprotection by amifostine (WR-2721) and its active metabolite (WR-1065) in vitro. **Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.**, 13:435 (abstract), 1994.

DORR RT, LAGEL KE.: Anthracycline cardioprotection by amifostine (WR-2721) and its active metabolite (WR-1065) in vitro. **Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.**, 13:435 (abstract), 1994.

DORR RT.: Cytoprotective agents for anthracyclines. **Semin. Oncol.**, 23(4):23-34, 1996.

DORR RT; SHIPP NG; LEE KM.: Comparison of cytotoxicity in heart cells and tumor cells exposed to DNA intercalating agents in vitro. **Anticancer Drugs.** : 2(1):27-33, 1991.

DOUAY L, HU C, GIARRATANA MC.: Comparative effects of amifostine (ethiol) on normal hemetapoietic stem cells versus human leukemic cells during ex vivo purging in autologous bone marrow transplants. **Semin. Oncol.**, 21:16-20, 1994.

DRESDALE A, BONOW RO, WESLEY R, et al.: Prospective evaluation of doxorubicin-induced cardiomyopathy resulting from postsurgical adjuvant treatment of patients with sift tissue sarcomas. **Cancer**, 52:51-60, 1983.

DUCKART G, ROSNER L, HENRY D.: Comparative cardiotoxicity of nitroxantrone vs. doxorubicin. **Proc. Soc. Clin. Oncol.**, 5:48, 1996.

FAURE M, THIVOLET J, GAUCHERAND M.: Inhibition of PMN leucocytes chemotaxis by thalidomide. **Arch. Dermatol. Res.**, 269: 275-280, 1980.

FAZIO S, PALMERI EA, FERRAVANTE B, et al.: Doxorubicin-induced cardiomyopathy treated with carvediol. **Clin. Cardiol.**, 21:777-779, 1998.

FELDMAN AM, LORELL BH, REIS SE.: Trastuzumab in the treatment of metastatic breast cancer: anticancer therapy versus cardiotoxicity. **Circulation**. 102:272-274, 2000.

FERRANS VJ, CLARK JR, ZHANG J, YU ZX, HERMAN EH.: Pathogenesis and prevention of doxorubicin cardiomyopathy. **Tisiologia**. 39:928-937, 1997.

FERRANS VJ, SANCHEZ JA, HERMAN EH.: Pathologic anatomy of animal models of anthracycline-induced cardiotoxicity, in Muggia F.M., Green, M.D., Speyer, J.L. (eds): **Cancer Treatment and the Heart**, Baltimore, MD, The Johns Hopkins University Press, pp. 89-113, 1992.

FERRANS VJ.: Anthracycline cardiotoxicity. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 161:519-532, 1983.

FERRANS VJ.: Overview of cardiac pathology in relation to antracycline cardiotoxicity. **Cancer Treat. Rep.**, 62:955-961, 1978.

FERRARI R, BACHETTI T, CONFORTINI R, et al.: Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with varying degrees of chronic heart failure. **Circulation**, 1995.

FERRARI R, CORTI A, BACHETTI T.: Tumor Necrosis Factor Alpha in Heart Failure. **Heart Failure**, 11(4): 142-149, 1995.

FINK FM, GENSEN N, FINK C, FALK M, MAIR J, MAURER-DENGG K, HAMMERER I, PUSCHENDORF B.: Cardiac kinase MB mass concentrations in children receiving anthracycline chemotherapy. **Med. Pediatr. Oncol.**, 25:185-189, 1995.

FONSECA G, VALERO C, BUDZAR A, et al.: Decreased cardiac toxicity by TLC D-99 in the treatment of metastatic breast carcinoma. **Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.**, 14:A99 (abstract), 1995.

FORTUIN NJ, SHERMAN ME, HOOD JR WP, et al.: Determination of left ventricular volumes by ultrasound. **Circulation**, **44**: 575, 1971.

FREITAS JP, FILIPE P, GUERRA RF.: Potential antioxidative effects of pentoxifylline. **C. R. Seances Soc. Biol Fil.** 189 (3): 401-405, 1995.

FU LX, WAAGSTEIN F, HJALMARSON A.: A new insight into adriamycin-induced cardiotoxicity. **Int. J. Cardiol.**, 29:15, 1990.

FULLERTON PM, O'SULLIVAN DJ. : Thalidomide neuropathy: a clinical, electrophysiological, and histological follow-up study. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**. 1968; 31: 543-551.

GANZ WI, SRIDHAR KS, GANZ SS, et al.: Review of tests for monitoring doxorubicin-induced cardiomyopathy. **Oncology**, 53:461-470, 1996.

GANZINA F, DI PIETRO N, MAGNI O.: Clinical toxicity of 4'-epi-doxorubicin (epirubicin). **Tumori**, 71(3):233-40, 1985.

GARDENER-MEDWIN JMM, SMITU NJ, POWELL RJ. :Clinical experience with thalidomide in the management of severe oral and genital ulceration in conditions such Behçet's disease: us fo neurophysiological studies to detect thalidomide neuropathy. **Ann Rheum. Dis.** 1994; 53: 828-832.

GEITZ H, HANDT S, ZWINGERBERGER K.: Talidomide selectively modulates the density of cell surface molecules involved in the adhesion cascade. **Immunopharmacology**, **131**: 213-221. 1996.

GIANNI L, CORDEN BJ, MYERS CE. : The biochemical basis of anthracycline toxicity and atitumor activity. pp. 1-82. In HODGSON E, BEND JR, PHILPORT RM (eds): **Reviews in Biochemical Toxicology. Elsevier, Amsterdam**, 1993.

GIANNI L, MUNZONE E, GIUSEPPE C, et al.: Paclitaxel by 3-hour infusion in combination with bolus doxorubicin in women with untreated metastatic breast cancer: High antitumor efficacy and cardiac effects in a dose-finding and sequence-finding study. **J. Clin. Oncol.**, 13:2688-2699, 1995.

GIANNI L, MYERS CE.: The role of free radical formation in the cardiotoxicity of anthracyclines, in Muggia FM., Green, MD, Speyer, JL (eds): **Cancer Treatment and the Heart**, Baltimore, MD, The Johns Hopkins University Press, pp. 9-46, 1992.

GOORMAGHTIGH E, HUART P, PRAET M, et al.: Structure of adryamycin-cardiolipin complex role in mitochondrial toxicity. **Biophys. Chem.** 35:247, 1990.

GOTTDIENER JS, MATHISEN DJ, BARER JS, et al.: Doxorubicin cardiotoxicity: Assessment of late left ventricular dysfunction by radionuclide cineangiography. **Ann. Inter. Med.**, 94: 430, 1981.

GREEN HL, REICH SD, DALEN JE.: How to minimize doxorubicin toxicity. **J. Cardiovasc. Med.**, 7: 306, 1982.

GREEN MD, ALDERTON P, SOBOL MM, et al.: ICRF-187 (ADR-529) cardioprotection against anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical and pre-clinical studies. **Cancer Treat. Res.**, 58: 101-117, 1991.

GREEN S, DOBRJANSKY A, CHIASSON MA.: Murine tumor necrosis inducing factor: purification and effects on myelomonocytic leukemia cells. **J. Natl. Cancer Inst.**, 68: 997, 1982.

GRUNFELD C, FEINGOLD KR.: Metabolic disturbances and wasting in the acquired immunodeficiency syndrome. **NEJM.**, 327:329-337, 1992.

GUERRINI M, PECCHI S, ROSSI C, et al.: Effect of pentoxifylline on blood hyperviscosity and peripheral haemodynamics in patients with peripheral obliterating arterial disease. **Pharmatherapeutica** , 3 (Suppl.1): 52-66, 1983.

GUTGESELL HP, PAQUET M, DUFF DF, et al.: Evaluation of ventricular size and function by echocardiography. Results in normal children. **Circulation**, 56: 457, 1977.

HAMM CW, RAVKILDE J, GARHARDT W, JORGENSEN P, PEHEIM E, LJUNGDAHL L, GOLDMANN B, KATUS HA.: The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. **N. Engl. J. Med.**, 327:146-150, 1992.

HAMMERSCHIMIDT DE, KOTASEK D, McCARTHY T, et al.: Pentoxifylline inhibits granulocyte priming by platelet activating factor. **J. Lab. Clin. Med.**, 112: 254-263, 1988.

HASINOFF BB.: The hydrolysis activation of the doxorubicin cardioprotective agent ICRF-187 ((+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl) propane). **Drug Metab. Dispos.**, 18:344-349,1990.

HASINOFF BB.: The iron (III) and copper (II) complexes of Adriamycin promote the hydrolysis of the cardioprotective agent ICRF-187 ((+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl) propane). **Agents Actions**, 29:374-381, 1990.

HASTINGS RC, TRAUTMAN JR, ENNA CD, JACOBSON RR: Thalidomide in the treatment of erythema nodosum leprosum. With a note on selected laboratory abnormalities in erythema nodosum leprosum. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1970; 11: 481-487.

HERMAN EH, EL-HAGE A, FERRANS VJ.: Protective effect of ICRF-187 on doxorubicin-induced cardiac and renal toxicity in spontaneously hypertensive

(SHR) and normotensive (WKY) rats. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 92:42-53, 1988.

HERMAN EH, FERRANS VJ, ARDALAN B, et al.: Comparison of the severity of the chronic cardiotoxicity produced by doxorubicin in normotensive and hypertensive rats. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 78:202-214, 1985.

HERMAN EH, FERRANS VJ, SANCHEZ JA.: Methods of reducing the cardiotoxicity of anthracyclines, in Muggia FM, Green, MD, Speyer, JL (eds): **Cancer Treatment and the heart**, Baltimore, MD, The Johns Hopkins University Press, pp. 114-170, 1992.

HERMAN EH, FERRANS VJ.: Preclinical animal models of cardiac protection from anthracycline-induced cardiotoxicity. **Semin. Oncol.**, 25(4):15-21, 1998.

HERMAN EH, LIPSHULTZ SE, RIFAI N, ZHANG J, et al.: Use of cardiac troponin T levels as an indicator of doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Cancer Res.** 58:195-197, 1998.

HERMAN EH, ZHANG J, HASINOFF BB, et al.: Comparison of the protective effects against chronic doxorubicin cardiotoxicity and the rats of iron (III) displacement reaction of ICRF-187 and other bisdiketopiperazines. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, 40:400-408, 1997.

HORTOBAGYI GN.: Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. **Drugs.**, 4:1-7, 1997.

HOWARD PH, PAYNES S, WONG L, GONZALES B, LEWIS W.: Lactate dehydrogenase activity in cultured neonatal rat heart cells exposed to doxorubicin. **Exp. Mol. Pathol.**, 48:3 311-6, 1998.

IMMUNEX CORPORATION.: Mitoxantrone for injection concentrate. Prescribing information. Seattle, Washington, USA, 1994.

IMONDI A, TORRE PD, MAZUE G, et al.: Dose-response relationship of dexrazoxane for prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, rats and dogs. **Cancer Res.**, 56:4200-4204, 1996.

ISNER JM, FERRANS VJ, COHEN SR, et al.: Clinical and morphological cardiac findings after anthracycline chemotherapy. Analysis of 64 patients studied at necropsy. **Am. J. Cardiol.**, 51: 1167, 1983.

JACOBSON JM, GREENSPAN JS, SPRITZLER J, et al.: Thalidomide for the treatment of oral aphthous ulcers in patients with human immunodeficiency virus infection. **NEJM**, 336:1487-1493, 1997.

JAIN D, ZARET BL.: Antimyosin cardiac imaging – Will it play a role in detection of doxorubicin cardiotoxicity? **J. Nucl. Med.**, 31:1970-1974, 1990.

JAIN KK, CASPER ES, GALLER NL, HAKES TB, KAUFMAN RJ, CURRIE V, CSHWARTZ W, CASSIDY C, PETRONI GR, YOUNG CW, et al.: A prospective randomized comparison of epirubicin and doxorubicin in patients with advanced breast cancer. **J. Clin. Oncol.**, 3(6):818-826, 1985.

JENSEN B, NIELSEN S, SKOVSGAARD T.: Treatment with angiotensin-converting-enzyme inhibitor for epirubicin-induced dilated cardiomyopathy. **Lancet.**, 347:297-299, 1996.

JORIZZO JL, SCHMALSTIEG FC, SOLOMON AR, et al.: Thalidomide effects in Behçet's syndrome and pustular vasculitis. **Arch. Intern. Med.**, 146:878-881, 1986.

KANTROWITZ NE, BRISTOW MR.: Cardiotoxicity of antitumour agents. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, 27: 195, 1984.

KAPADIA S, DIBBS Z, KURRELMEYER K, KALRA D, et al.: The role of cytokines in the failing human heart. **Cardiology Clinics.**, 16: 645-657, 1998.

KAPADIA S, LEE JR, TORRE-AMIONE G, et al.: Tumor necrosis factor gene and protein expression in adult feline myocardium following endotoxin administration. **J. Clin. Invest.**, 96: 1042-1052, 1995.

KAPELKO VI, SAKS VA, NOVIKOVA NA, et al.: Adaptation of cardiac contractile functions to conditions of chronic energy deficiency. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 21:79, 1989.

KATUS HA, REMPPIS A, SCHEFFOLD T, DIEDERICH KW, KUEBLER W.: Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. **Am. J. Cardiol.**, 67:1360-1367, 1991.

KEFFER JH.: Myocardial markers of injury. Evolution and insights. **Clin. Chem.**, 105:305-320, 1996.

KEHOE R, SURGER DH, TRAPANI A, BILLINGHAM M, LEVANDOWSKI R, ELSON J.: Adriamycin-induced cardiac dysrhythmias in an experimental dog model. **Cancer Treat. Rep.**, 62: 963-989, 1978.

KLAUSNER JD, FREEDMAN VH, KAPLAN G.: Thalidomide as an anti-TNF-[alpha] inhibitor: implication for clinical use. **Clin. Immunol. Immunopathol**, 81: 219-223, 1996.

KNOP, J, BONSMANN, G, HAPPLE, R, et al.: Thalidomide in the treatment of sixty cases of chronic discoid lupus erythematosus. **Br. J. Dermatol.**, 108:461-466, 1983.

KRISCHER J, EPSTEIN S, CUTHBERTSON D, et al.: Clinical cardiotoxicity following anthracyclines treatment for childhood cancer: The pediatric oncology group. **J. Clin. Oncol.**, 15:1544-1522, 1997.

LANZA E, ROZZA A, FAVALLI L, MONTI E, POGGI P, VILLANI F.: The rat model in the comparative evaluation of anthracycline cardiotoxicity. **Tumori**, 75 (6):536-6, 1989.

LEFRAK EA, PITHA J, ROSENHEIM S, et al.: A clinicopathologic analysis of Adriamycin cardiotoxicity. **Cancer**, 32:302-314, 1973.

LEVINE B, KALMAN J, MAYER L, et al.: Elevated circulating levels of tumor necrosis alpha in severe chronic heart failure. **N. Engl. Med.**, 223: 236-241, 1990.

LIM SH, McWHANNELL A, VORA AJ, et al. Successful treatment with thalidomide of acute graft-versus-host disease after bone-marrow transplantation [letter]. **Lancet** 1988; 1:117.

LIPSHULT SE, OTTLINGER M, LIPSITZ SR, SALLAN D, RAFAI N.: Predictive value of serum cardiac troponin T (cTnT) in pediatric patients at risk for myocardial injury. **J. Am. Coll. Cardiol.**, 29:429A, 1997.

LIPSHULTZ SE, LIPSITZ SR, MONE SM, et al.: Female sex and higher drug dose as risk factors for late cardiotoxicity effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. **N. Engl. J. Med.**, 332: 1738, 1995.

LOPEZ M, VICI P, LAURO LD, et al.: Randomized prospective clinical trial of high-dose epirubicin and dexrazone in patients with advanced breast cancer and soft tissue sarcomas. **J. Clin. Oncol.**, 16:1-7, 1998.

MAIR J, WOHLFARTER T, KOLLER A, MAYR M, DWORZAK EA, PUSCHENDORF B.: Serum cardiac troponin T after extraordinary endurance exercise. **Lancet.**, 340:1048, 1992.

MALISZA KL; HASINOFF BB.: Doxorubicin reduces the iron(III) complexes of the hydrolysis products of the antioxidant cardioprotective agent dexrazoxane (ICRF-187) and produces hydroxyl radicals. **Arch Biochem Biophys**: 316:680-688, 1995.

MALOUF NN, McMAHON D, OAKELEY AE, et al.: A cardiac troponin T epitope across phyla. **J. Biol. Chem.**, 267:9169-9174, 1992.

MANRIQUE R V, MANRIQUE V.: Platelet resistance to prostacyclin. Enhancement of the antiaggregatory effect of prostacyclin by pentoxifylline. **Angiology**, 38: 101-108, 1987.

MANSON JW, BRISTOW MR, BILLINGHAM ME, et al.: Invasive and noninvasive methods of assessing adriamycin cardiotoxic effects in man, superiority of histopathologic assessment using endomyocardial biopsy. **Cancer Treat. Rep.**, 62:857-864, 1978.

MATSUMORI A, SHIOI, YAMADA T, et al.: Vesnarinone, a new inotropic agent, inhibits cytokine production by stimulated human blood from patients with heart failure. **Circulation**, 89: 955-958, 1994.

McHUGH SM, RIFKIN IR, DEIGHTON J, et al.: The immunosuppressive drug thalidomide induces T helper cell type 2 (Th2) and concomitantly inhibits Th1 cytokine production in mitogen- and antigen-stimulated human peripheral blood mononuclear cell cultures. **Clin. Exp. Immunol.**, 99:160-167, 1995.

McKILLOP JH, BRISTOW MR, GORIS ML, et al.: Sensitivity and specificity of radionuclide ejection fractions in doxorubicin cardiomyopathy. **Am. Heart. J.**, 106:1048-1056, 1983.

McMILLAN Hemorheology, In: LEVIN ME, O'NEAL LW, BOWKER J H, (Eds), **The diabetic foot**, pp. 115-133, Mosby-Year Book Inc., 5th Ed., 1993.

McMURRAY J, ABDULLAH I, DARGIE HJ, et al.: Increased concentrations of tumor necrosis factor in "cachectic" patients with severe chronic heart failure. **Br. Heart J.**, **66**: 356-358, 1991.

MELLIN G, KATZENSTEIN M, The saga of thalidomide (concluded). **NEJM**, 267:1238-1244, 1962.

METTLER FP, YOUNG DM, WADR JM: Adriamycin-induced cardiotoxicity (cardiomyopathy and congestive heart failure) in rats. **Cancer Res.**, 37:2705-2713, 1977.

MINOW RA, BENJAMIN RS, LEE EF, et al.: Adriamycin cardiomyopathy - risk factors. **Cancer.**, 39:1397-1402, 1977.

MISSOV E, MAIR J, A novel biochemical approach to congestive heart failure: cardiac troponin T. **Am. Heart J.**, 138:95-9, 1999.

MOLLER DR, WYSOCKA M, GREENLEE BM, et al.: Inhibition of IL-12 production by thalidomide. **J. Immunol.**, 159:5157-5161, 1997.

MONTI E, PICCININI F, VILLANI F, FAVALLI L, Myocardial contractility and heart pharmacokinetics of doxorubicin after a single iv administration in rat. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, 18:289-291, 1986.

MORIERA AL, SAMPAIO EP, ZMUIDZINAS A, FRINDT P, SMITH KA, KAPLAN G, Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor α by enhancing mRNA degradation, **J. Exp. Med.**, **177**: 1675-1680, 1993.

MORTENSEN SA, OLSEN HS, BAANDRUP U, Chronic anthracycline cardiotoxicity: haemodynamic and histopathological manifestations suggesting a restrictive endomyocardial disease. **Br. Heart J.**, **55**:274-282, 1986.

MOVSAS B, RAFFIN TA, EPSTEIN AH, LINK CJ Pulmonar radiation injury. **Chest.** **111**: 1061-1076, 1997.

MULLER R, Modification of disturbed flow properties of blood: a promising avenue in the treatment of peripheral vascular diseases. **Pharmatherapeutica**, **3** (Suppl.1): 5-17, 1983.

MYERS CE, Role oof iron in anthracycline action, in Tritton T (ed): **Proceedings of First International Symposium on Organ Related Toxicity**. Boston. M.A. Martinus Nijhoff, pp. 17-31, 1988.

NAUM SM, MOLLOY PJ, KANIA RJ, et al.: Use of thalidomide in treatment and maintenance of idiopathic esophageal ulcers in HIV+individuals. **Dig. Dis. Sci.**, **40**:1147-1148, 1995.

NEUBERT R, NEUBERT D, Peculiarities and possible mode of action of thalidomide. In: Kavlock RJ, Daston GP, eds. **Drug Toxicity in Embryonic Development** (Handbook of Experimental Pharmacology), vol. 124/II. Berlim: Springer Verlag, 41-119, 1996.

O'BRIEN PJ, DAMERON GW, BECK ML, KANG YJ, et al.: Cardiac troponin T is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. **Lab. Anim. Sci.** **47**(5):486-495, 1997.

OHNISHI ST, OHNISHI T, GLICK JH, et al.: In vitro study on the antioxidant activities of amifostine (WR-2721). **Proc. Am. Assoc. Cancer Res.**, 33:419, 1992.

OTTINGLER M, SALLAN S, RIFAI N, et al.: Myocardial damage in doxorubicin-treated children: A study of serum cardiac troponin T measurements. **Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.**, 14:A 1042, 1995.

PAGANI FD, BAKER LS, HSI C, et al.: Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor- α in conscious dogs. **J. Clin. Invest.**, 90: 389-398, 1992.

PAGANI O, SESSA C, MARTINELLI G, CRIVELLARI D, BUONADONNA A, et al.: Dose-finding study of epidoxorubicin and docetaxel as first-line chemotherapy in patients with advanced breast cancer. **Ann. Oncol.**, 10:539-545, 1999.

PAXTON A Comment: mitoxantrone [letter]. **Drug Intell. Clin. Pharm.**, 20:507-508, 1986.

PENCO S, Antitumour anthracyclines: new developments. **Process Biochem.**, June/July,12-26, 1980.

PESSAH IN, DURIE EL, SCHIEDT MJ, et al.: Anthraquinone-sensitized Ca^{2+} release channel from rat cardiac sarcoplasmic reticulum: possible receptor-mediated mechanism of doxorubicin cardiomyopathy. **Mol. Pharmacol.**, 37:503, 1990.

PITTMAN J G, COHEN P.: The pathogenesis of cardiac cachexia. **N. Engl. Med.**, 27: 403, 1964.

PLATEL D, POUNA P, BONORON-ADÈLE S, ROBERT J Comparative cardiotoxicity of idarubicin and doxorubicin using the isolated perfused rat heart model. **Anticancer Drugs.**, 10:671-676, 1999.

PONA P, BONORON-ADELE S, GOUVERNEUR G, TARIOSSE L, BESSE P, ROBERT J, Development of the model of rat isolated perfused heart for the evaluation of anthracycline cardiotoxicity and its circumvention. **Br. J. Pharmacol.**, 117(7):1593-9, 1996.

POSNER LE, DUKART G, GOLDBERG J, et al.: Mitoxantrone: an over-view of safety and toxicity. **Invest New Drugs.** 3:123-132, 1985.

PRAGA C, BRETTE G, VIGO PL, et al.: Adriamycin cardiotoxicity: a survey of 1273 patients. **Cancer Treat. Rep.**, 63: 827-34, 1979.

PRATESI G.: Antitumour activity, toxicity and pharmacological properties of 4'epidriamycin. **Current Chemotherapy**, published by American Society for Microbiology., 1257-1260, 1979.

PUSCHENDORF B Kardiales troponin T. In: THOMAS L (ed): **Labor. Und. Diagnose.** Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, pp. 834-836, 1992.

RADEFF B, KUFFER R, SAMSON J, Recurrent aphthous ulcer in patient infected with human immunodeficiency virus: successful treatment with thalidomide. **J. Am. Acad. Dermatol.**, 23:523-525, 1990.

RAMOS CP, Caracterização eletrocardiográfica e anátomo-patológica de cinco tipos de cardiopatias crônicas em ratos. **Tese de doutorado** . Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -USP , 1987.

REMPPIA A, SCHEFFOLD T, GRETEN J, et al.: Intracellular compartmentation of troponin T: release kinetics after global ischemia and calcium paradox in isolated perfused rat heart. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 27:793-803, 1995.

RIBEIRO RA; FLORES CA; CUNHA FQ, FERREIRA SH, IL-8 causes *in vivo* neutrophil migration by a cell-dependent mechanism **Immunol.**, 73: 472; 1991.

RIBIERO, RA, BRITO GAC.: Migração de Neutrófilos: Mecanismos e mediadores. **Pesqui. Méd.** Fortaleza, v.2, n. ¾, p. 108-115, jul./dez., 1999.

ROSEN GM, HALPERN HJ.: Spin trapping biologically generated free radicals: correlating formation with cellular injury. **Methods Enzimol.**, 18:611-621, 1990.

ROSENOFF SH, OLSON HM, YOUNG DM.: Adriamycin-induced cardiac damage in the mouse: A small-animal model of cardiotoxicity. **J. Natn. Cancer Inst.**, 55: 191-194, 1975.

RUBIO M, WIEGMAN A, NAEFF M, et al.: ICRF-187 (Cardioxane) protection against doxorubicin induced cardiomyopathy in pediatric osteosarcoma patients. **Proc. Am. Clin. Oncol.**, 14:A440 (abtract), 1995.

RYBERT M, NIELSEN D, SKOVSGAARD T, HANSEN J, JENSEN BV, DOMBERNOWSKY P.: Epirubicin cardiotoxicity: an analysis of 469 patients with metastatic breast cancer. **J. Clin. Oncol.**, 16:3502-3508, 1998.

SADZUKA Y, SUGIYAMA T, SHIMOI K, et al.: Protective effects of flavonoids on doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Toxicol. Lett.**, 92:1-7, 1997.

SAMPAIO EP, KAPLAN G, MIRANDA A, et al.: The influence of thalidomide on the clinical and immunologic manifestation of erythema nodosum leprosum. **J. Infect. Dis.** 168:408-414, 1993.

SAMPAIO EP, MORIERA AI, SARNO EN, et al.: Prolonged treatment with recombination interferon [gamma] induces erythema nodosum leprosum in lepromatous leprosy patients. **J. Exp. Med.** 175: 1729-1773, 1992.

SAMPAIO, EP, SARNO, EN, GALILLY R, et al.: Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor [alpha] production by stimulated human monocytes. **J. Exp. Med.**, 173: 699-703, 1991.

SARNO EN, GRAU GE, VIEIRA LMM, NERY AC.: Serum levels of TNF- α and IL-1 β during leprosy reactional states. **Clin. Exp. Immunol.**, 84: 103,1991.

SARNO EN, GRAU GE, VIEIRA LMM, NERY JA.: Serum levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1[beta] during leprosy reactional states. **Clin. Exp. Immunol**, 84: 103-108, 1991.

SASKIA ABE, van ACKER, KRAMER K, GRIMBERGEN AJ, VAN DEN BERG DJ, WIM JF, BAST A.: Monohydroxyethylrutoside as protector against chronic doxorubicin-induced cardiotoxicity. **British Journal of Pharmacology**, 115: 1260-1264, 1995.

SAURAT J-H, CAMENZIND M, HELG C, CHAPUIS B.: Thalidomide for graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. **Lancet**. i:359, 1988.

SCHWARTZ RG, MCKENZIE WB, ALEXANDER J, et al.: Congestive heart failure and left ventricular dysfunction complicating doxorubicin therapy. Seven-year experience using serial radionuclide angiocardigraphy. **Am. J. Med.**, 82:1109, 1987.

SEINO Y, TOMITA Y, NAGAI Y, KUSAMA Y, HAYAKAWA H, SASAKI T, HORII I.: Cardioprotective effects of ACE-inhibitor (Cilazapril) on adriamycin cardiotoxicity in spontaneously hypertensive rats. **Circulation**, 88:1633, 1993.

SETSUTA K, SEINO Y, TAKAHASHI N, OGAWA T, SASAKI K, HARADA A, et al.: Clinical significance of elevated levels of cardiac troponin T in patients with chronic heart failure. **Am. J. Cardiol.**, 84:608-611, 1999.

SEYEDIN A, SHEYKHZADE M, HERMANSEN K.:The eletrocardiogram from mice as a model to study anthracycline cardiotoxicity. **Br. J. Pharmacol.**, 111:275,1994.

SEYMOUR L, BRAMWELL V, MORAN LA.: Use of dexrazone as a cardioprotectant in patients receiving doxorubicin or epirubicin chemotherapy for the treatment of cancer. The provincial systemic treatment disease site group. **Cancer Prev. Control.**, 3:145-159, 1999.

SHESKIN J.: Thalidomide in the treatment of lepra reaction. **Clin. Pharmacol. Ther.**, 6:303-306, 1965.

SINGAL PK, DEARLY CMR, WEINBERG LE.: Subcellular effects of adryamicin in the heart: a concise review. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 19:817-828, 1987.

SINGAL PK, ILIKOVIC N, LI T, et al.: Adryamicin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. **Faseb J**, 11:931-936, 1997.

SINGAL PK, ILIKOVIC N.: Doxorubicin-induced cardiomyopathy. **N. Engl. J. Med.**, 339:900-905, 1998.

SINGAL PK, SIVESKI-ILISKOVIC N, HILL M, et al.: Combination therapy with probucol prevents adryamicin-induced cardiomyopathy. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 27:1055-1063, 1995.

SINHA BK, KATKI AG, BATIST G, et al.: Adiamycin-stimulated hydroxyl radical formation in human breast tumor cells. **Biochem. Pharmacol.**, 36:793-796, 1987.

SMITH RF, JOHNSON G, ZIESCHE S, et al.: Functional capacity in heart failure: Comparison of methods for assessment and their relation to other indexes of heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. **Circulation**, 87: VI88, 1993.

SOLCIA E, BALLERINI L, BELLINI O, MAGRINI U, BERTAZZOLI C, TOSANA G, SALA L, BALCONI F, RALLO R.: Cardiomyopathy of doxorubicin in experimental animals. Factors affecting the severity, distribution and evolution of myocardial lesions. **Tumori**, 67:461-472, 1981.

SPEYER J, WASSERHEIT C.: Strategies for reduction of anthracycline cardiac toxicity. **Semin. Oncol.**, 25(4):525-537, 1998.

SPEYER JL, FREEDBERG R.: Cardiac Complications In. SPEYER JL; FREEDBERG R.: Problems Common to Cancer and Its Therapy. **Clinical Oncology**. 47: 809-819, 1996.

SPEYER JL, GREEN MD, KRAMER E, et al.: Protective effect of the bispiperazinedione ICRF-187 against doxorubicin-induced cardiac toxicity in women with advanced breast cancer. **N.engl. J. Med.**, 319: 745-752, 1988.

STEINHERZ L J, STEINHERZ P.: Cardiac failure more than six years post anthracyclines. **Am. J. Cardiol.**, 62:505, 1988.

STEINHERZ L, STEINHERZ P, TAN C, et al.: Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. **Jama.**, 266:1672-1677, 1991.

STEVESON LW.: Dilated Cardiomyopathy: Principles and Prognosis. In: ZIPES DP, ROWLANDS DJ(eds): **Progress in Cardiology**. Philadelphia, Lea and Febiger, pp. 51, 1989.

SUARATO A.: Ring-B modified anthracyclines. **Curr. Pharm. Des.**, 5:217-227, 1999.

SWAIN S, WHALEY F, GERBER M, et al.: Delayed administration of dexrazoxane provides cardioprotection for patients with advanced breast cancer treated with doxorubicin-containing therapy. **J. Clin. Oncol.**, 15:1333-1340, 1997.

TAKANO H, OZAWA H, KOBAYASHI I, et al.: Atrophic nerve fibers in regions of reduced MIBG uptake in doxorubicin cardiomyopathy. **J. Nucl. Med.**, 36:2060-2061, 1995.

TAN C, TASAKA H, YU KP, et al.: Daunomycin, an antitumor antibiotic, in the treatment of neoplastic disease. Clinical evaluation with special reference to childhood leukemia. **Cancer**, 20:333-353, 1967.

THORÉN-TOLLING K, JÖNSSON L.: Creatine kinase isoenzymes in serum of pigs having myocardial and skeletal muscle necrosis. **Can. J. Comp. Med.**, 47:207-216, 1983.

TOFFOLI G; SORIO R; AITA P; CRIVELLARI D; CORONA G; RIMONDI G; BEARZ A; STOCCO F; ROBIEUX I; BOIOCCHI M. Pharmacology of chronic oral daily administration of idarubicin. **Haematologica**: 82(5 Suppl):1-3, 1997.

TORRAS H, LECHA M, MASCARO J.: Thalidomide treatment of recurrent giant mucocutaneous aphthae and aphthosis. **Arch Dermatol.**, 118:875, 1982.

TORTI FM, BRISTOW MR, HOWES AE, et al.: Reduced cardiotoxicity of doxorubicin delivered on a weekly schedule: assessment by endomyocardial biopsy. **Ann. Inter. Med.**, 99:745, 1983.

TSENG S, PAK G, WASHENIK K, et al.: Rediscovering thalidomide: a review of its mechanism of action, side effects, and potential uses. **J. Am. Acad. Dermatol.**, 35:969-979, 1996.

VAN ACKER SABE, KRAMER K, GRIMBERGEN JA, VAN DER VIJGH WJF, BAST A.: Doxorubicin-induced chronic cardiotoxicity measured in freely moving mice. In: **Contributions to Oncology**. Vol.48, ed.Zeller, W J, pp. 30-39,1995. Basel: Karger.

VAN DER BROEK H.: Treatment of prurigo nodularis with thalidomide. **Arch. Dermatol.**, 116:571-572, 1980.

VAN DER VIJGH WJF, VAN VELZEN D, VAN DER POORT et al.: Morphometric study of myocardial changes during doxorubicin-induced cardiomyopathy in mice. **Eur. J. cancer Clin. Oncol.** 24(10):1603-1608, 1988.

VAN DEUREN M, DOFFERHOFF ASM., VAN DER MEER JW.: Cytokines and the response to infection. **J. Pathol.**, 168: 349-356, 1992.

VERHEUL HM, APNIGRAHY D, YUAN J, D'AMATO RJ : Combination therapy with thalidomide and sulindac inhibits tumor growth in rabbits. **Br. J Cancer.** 1999; 79: 114-118.

VILLANI F, BERETTA G, GUINDANI A.: Evaluation of early doxorubicin induced cardiotoxicity by means of systolic time intervals. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, 3:249-251, 1979.

VILLANI F, COMAZZI R, LACAITA G, GENITONI V, GUINDANI A, MARTINI A.: Preliminary echocardiographic and polygraphic evaluation of cardiac toxicity of 4'-epi-doxorubicin. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.**, 21(4):203-8, 1983.

VILLANI F, MONTI E, PICCININI F, FAVALLI L, LANZA E, ROZZA DIONIGI A, POGGI P.: Relationship between doxorubicin-induced ECG changes and myocardial alterations alteration in rats. **Tumori**, 72:323-329, 1986.

VILLANI F; COMAZZI R; LACAITA G; GENITONI V; GUINDANI A; MARTINI A. Preliminary echocardiographic and polygraphic evaluation of cardiac toxicity of 4'-epi-doxorubicin. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.**: 21(4):203-208, 1983.

VON HOFF DD, LAYARD MW, BASA P, et al.: Risk factor for doxorubicin-induced congestive heart failure. **Ann Intern. Med.**, 91:710-717, 1979.

VON HOFF DD, ROZENCWEIG M, LAYARD M, SLAVIK M, MUGGIA FM.: Daunomycin induced cardiotoxicity in children and adults: a review of 110 cases. **Am. J. Med.**, 62: 200-08, 1977.

VON HOFF DD, ROZENCWEIG M, PICCART M.: The cardiotoxicity of anticancer agents. **Semin. Oncol.**, 9:23-33, 1982.

VOROBIOF DA; ITURRALDE M; FALKSON G.: Assessment of ventricular function by radionuclide angiography in patients receiving 4'-epidoxorubicin and mitoxantrone. **Cancer Chemother Pharmacol**: 15(3):253-257, 1985.

WAKASUGI S, INOUE M, TAZAWA S.: Assessment of adrenergic neuron function altered with progression of heart failure. **J. Nucl. Med.**, 36:2069-2074, 1995.

WALPOTH BH, TSCHOPP A, PEHEIM E, et al.: Assessment of troponin T for detection of cardiac rejection in a rat model. **Transplantation Proc.**, 27:2084-2087, 1995.

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

WASSERMANN K; MOLGAARD K; STEINESS E.: Similar changes in cardiac morphology and DNA synthesis induced by doxorubicin and 4'-epi-doxorubicin. **Cancer Chemother Pharmacol**: 15(3):244-252, 1985.

WEINAND S, et al.: Oxygen radical production in human mononuclear blood cells is not suppressed by drugs used in clinical islet transplantation. **J. Mol. Med.**, 77(1): 121-2, 1999.

WEISS RB, SAROSY G, CLAGETT-CARR K, RUSSO M, LEYLAND-JONES B.: Anthracycline analogs: The past, present, and future. **Cancer Chemother. Pharmacol.** 18: 185-197, 1986.

WEISS RB.: The anthracyclines: will we ever a better doxorubicina? **Semin. Oncol.**, 19:670-686, 1992.

WILLIAMS GA, JONSON JR, BURKE G.: FDA oncology drugs advisory committee review of Zinecard (dexrazoxane, ADR-529, ICRF-187). Rockville: **Center for Drug Evaluation and Research.**, pp. 1-13, 1992.

WOLKENSTEIN P, LATARJECT J, ROUJEAU JC.: Randomised comparison of thalidomide versus placebo in toxic epidermal necrolysis. **Lancet**, 352:1586-1589, 1998.

WONG SS.: Strategic utilization of cardiac markers for the diagnostic of acute myocardial infarction. *Ann: Clin. Lab. Sci.*, 26:301-12, 1996.

YEUNG TK, SIMMONDS RH, HOPEWELL JW.: A functional assessment of the relative cardiotoxicity of adriamycin and epirubicin in the rat. *Radiother. Oncol.*, 15(3):275-84, 1989.

YEUNG TK, SIMMONDS RH, HOPEWELL JW.: The relative toxicity of intravenous and intraperitoneal doses of epirubicin. **Cancer Chemoter. Pharmacol.**, 24(4):211-8, 1989.

YOUNG DM, PRIEUR DJ, FIORAVANTI JL.: Clinicopathologic effects of long-term adriamycin administration to rabbits. **Am. Assoc. Cancer Res.**, 15:103, 1974.

YOUNG DM.: Phatologic effects od adriamycin (NCS.123127) In Experimental Systems. **Cancer Chemoterapy Rept.**, 6:159-175, 1975.

ZELDIS JB, WILLIAMS BA, THOMAS SD, ELSAYED ME, STEPS.: A comprehensive program for controlling and monitoring access to thalidomide. **Clin. Ther.**, 21:319-330, 1999.

ZHANG J, CLARK JR, HERMAN EH, et al.: Doxorubicin-induced apoptosis in spontaneously hypertensive rats: Differential effects in heart, kidney and intestine, and inhibition by ICRF-187. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 28:1931-1943, 1996.

ZHANG J, HERMAN EH, FERRANS VJ.: Dendritic cells in the heart of spontaneously hypertensive rats treated with doxorubicin, with or without ICRF-187. **Am. J. Pathol.**, 142:1916-1926, 1993.