

AC. 47409/14
R1332058
03/10/100

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

**ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS NA PREVENÇÃO DA CISTITE
HEMORRÁGICA INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA E
IFOSFAMIDA COM DROGAS ANTIINFLAMATÓRIAS: UM ESTUDO
EXPERIMENTAL COMPARATIVO COM O MESNA**

MILENA MAIA DE MORAIS

T.D.
616.623
M826a
2000

FORTALEZA – CE

2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

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

**ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS NA PREVENÇÃO DA CISTITE
HEMORRÁGICA INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA E
IFOSFAMIDA COM DROGAS ANTIINFLAMATÓRIAS: UM ESTUDO
EXPERIMENTAL COMPARATIVO COM O MESNA**

MILENA MAIA DE MORAIS

**Dissertação apresentada ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia da
Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará com pré-requisito
para obtenção do título de Mestre em Farmacologia**

**Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro
Có-Orientadora: Profa. Dra. Gerly Anne de Castro Brito**

**FORTALEZA
2000**

FICHA CATALOGRÁFICA

M826a Motais, Milena Maia de
 Alternativas terapêuticas na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida com drogas antiinflamatórias: Um estudo experimental comparativo com o mesna / Milena Maia de Moraes. – Fortaleza, 2000.
 211 f. : il.
 Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro.
 Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina.
 1. Cistite hemorrágica. 2. Cistite-Ciclofosfamida. 3. Cistite-Ifosfamida. 4. Cistite-Dexametasona. 5. Cistite-Indometacina. 6. Cistite-Meloxicam. 7. Cistite-*Myracrodruon urundeuva* Fr. All. 8. Cistite-*Ageratum conyzoides* L. 9. Cistite-Ternatina. 10. Cistite-Mesna. I. Ribeiro, Ronaldo de Albuquerque (Orientador). II. Título CDD: 616.623

**ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS NA PREVENÇÃO DA CISTITE
HEMORRÁGICA INDUZIDA POR CICLOFOSFAMIDA E
IFOSFAMIDA COM DROGAS ANTIINFLAMATÓRIAS: UM ESTUDO
EXPERIMENTAL COMPARATIVO COM O MESNA**

MILENA MAIA DE MORAIS

Aprovada com Louvor

27 de Julho de 2000

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro
(Orientador)

Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes

**Trabalho realizado no Laboratório de Farmacologia da Inflamação
e do Câncer (LAFICA) da Universidade Federal de Ceará - UFC**

*“Brilhante é a sabedoria, e sua beleza é inalterável;
os que a amam, descobrem-na facilmente,
os que a buscam encontram-na”.*

Sabedoria 6, 12

Ao meu marido, Luiz Sérgio, por ser o amor da minha vida e um grande companheiro na busca de nossos ideais.

Aos meus pais, Jáder e Selene, os grandes responsáveis pela conquista deste objetivo, pois foram eles como exímios professores e pesquisadores, que me transmitiram o valor do ensino e da pesquisa para um futuro mais promissor. E principalmente, dedico-lhes esta felicidade, pelo amor que sempre recebi, todos os dias de minha vida.

Aos meus irmãos, Lília, Raquel e Meton e ao meu sobrinho Jáder Neto, por sermos muito unidos pelo amor e pela alegria, em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Ronaldo de Albuquerque Ribeiro, por ter me recebido muito bem em seu laboratório, transmitindo-me competência, segurança e grande responsabilidade pela pesquisa científica.

À minha co-orientadora, Professora Gerly Anne de Castro Brito, por sua valiosa orientação em todos os meus passos nesta pós-graduação. E ainda, por sua personalidade forte e sincera que me cativou bastante.

*Ao Professor Francisco José de Abreu Matos, por ser um exemplo de pesquisador, professor, e por ter me ensinado muito durante o período da iniciação científica como meu orientador no Laboratório de Produtos Naturais da UFC. E agradeço ainda por ter cedido do seu horto de plantas medicinais o *Ageratum conyzoides* L., um dos produtos naturais estudados nesta dissertação.*

À Professora Maria Iracema Lacerda Machado, também por me orientar com muita dedicação e incentivo no período da iniciação científica no Laboratório de Produtos Naturais da UFC.

Aos professores, Glauce Socorro de Barros Viana, Vietla Satyanarayana Rao e Marcus Raimundo Vale, pela orientação importantíssima do uso dos produtos naturais estudados nesta dissertação.

*À Professora Mary Anne Bandeira, por ter preparado e cedido o extrato de *Myracrodroun urundeuva* Fr. All. estudado nesta dissertação.*

Ao Professor Edilberto Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, pelo isolamento, purificação e fornecimento da ternatina, outro produto natural estudado nesta dissertação.

À todos os professores da pós-graduação que contribuíram em minha formação científica neste curso.

Aos estudantes de Iniciação Científica, José Nelson Belarmino Filho, por ter me acompanhado e me ajudado bastante desde o início dos trabalhos experimentais desta dissertação, e ao Erik, Ana Carolina, Yuri e Paulo Henrique também pela importante colaboração, amizade e agradável convivência.

Aos amigos do laboratório, Benedito Filho, Mariana, Veruska, Vilma, Nylane, Ana Maria, Mirna, Carlos, Renata, Gurgel, Sabrina, Breno, André e Cristiano pelo companheirismo, incentivo e solidariedade.

Aos amigos da pós-graduação, Ana Paula, Mila, Luilma, Amália, Vasco, Elizete, Vítor Hugo, Ronaldo, Raimundo, Aronai, Luiz Fernando e Patrícia pelo excelente convívio durante o curso.

Aos funcionários do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer, Vandinha, Aucilene e Sílvio, por estarem sempre dispostos a ajudar.

Ao funcionário do Departamento de Morfologia, Ivan, por ser um profissional dedicado e talentoso e muito prestativo na confecção das lâminas histopatológicas.

Aos funcionários do Departamento de Farmacologia, Sílvia, Marta, Joana, Haroldo, pela presteza nas minhas solicitações.

À Dra. Artemísia, por ser sempre muito atenciosa as minhas solicitações ao biotério.

À FUNCAP/CNPq, pelo apoio financeiro concedido.

À todos, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

E agradeço especialmente à Deus, por me conceder amigos, capacidade para amar, trabalhar e ter fé.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xiii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
PRÓLOGO.....	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Oxazafosforinas.....	2
1.1.1. Ciclofosfamida.....	2
1.1.2. Ifosfamida.....	7
1.2. Cistite Hemorrágica.....	13
1.2.1. Diagnóstico da Cistite Hemorrágica Induzida por Oxazafosforinas.....	14
1.2.2. Tratamento da Cistite Hemorrágica.....	16
1.2.3. Prevenção da Cistite Hemorrágica.....	20
1.2.3.1. 2-Mercaptoetano-Sulfonato De Sódio (Mesna).....	21
1.2.4. Cistite Hemorrágica como uma Patologia Inflamatória.....	24
1.3. Drogas Antiinflamatórias Utilizadas na Tentativa de Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida e Ifosfamida.....	26
1.3.1. Dexametasona.....	26
1.3.2. Indometacina.....	30
1.3.3. Meloxicam.....	31
1.3.4. Produtos Naturais.....	33
1.3.4.1. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr.All.....	33
1.3.4.2. <i>Ageratum conyzoides</i> L.....	35
1.3.4.3. Ternatina – Flavonóide Isolado de <i>Egletes viscosa</i> Less.....	37
1.4. Justificativa e Objetivos.....	40
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
2.1. Animais.....	45
2.2. Aparelhos e Instrumentos Laboratoriais.....	45
2.3. Drogas, Soluções, Líquidos e Corantes Utilizados.....	46
2.4. Protocolo Experimental.....	48
2.4.1. Indução de Cistite Hemorrágica.....	48
2.4.2. Parâmetros Avaliados na Cistite Hemorrágica.....	48
2.4.2.1. Avaliação do Peso Úmido Vesical.....	48
2.4.2.2. Análise Macroscópica.....	49
2.4.2.3. Análise Histopatológica.....	49
2.5. Delineamentos Experimentais.....	51
2.5.1. Avaliação do Efeito da Dexametasona na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Dexametasona e do Mesna.....	52

2.5.1.1. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (<i>ip</i>) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	52
2.5.1.2. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (<i>ip</i>) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	52
2.5.2. Avaliação do Efeito da Dexametasona administrada por via oral (<i>vo</i>) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Dexametasona oral e do Mesna oral.....	53
2.5.2.1. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (<i>vo</i>) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	53
2.5.2.2. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (<i>vo</i>) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	54
2.5.3. Avaliação do Efeito da Administração de Apenas Uma Dose de Mesna na Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida e Ifosfamida.....	55
2.5.3.1. Efeito da Administração de Apenas Uma Dose de Mesna na Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	55
2.5.3.2. Efeito da Administração de Apenas Uma Dose de Mesna na Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	55
2.5.4. Avaliação do Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação (Mesna + Dexametasona) na Potenciação da Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS), quando comparado com o Efeito de Três Doses de Mesna.....	56
2.5.5. Avaliação do Percentual de Alterações Macroscópicas e Histopatológicas (Microscópicas) das Bexigas de 18 Ratos Tratados com 3 doses de Mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	57
2.5.6. Avaliação do Percentual de Alterações Macroscópicas e Histopatológicas (Microscópicas) das Bexigas de 18 Ratos Tratados com 3 doses de Mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	58
2.5.7. Avaliação do Efeito da Indometacina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Indometacina e do Mesna.....	59
2.5.7.1. Efeito da Indometacina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	59
2.5.7.2. Efeito da Indometacina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	59
2.5.8. Avaliação do Efeito do Meloxicam na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos do Meloxicam e do Mesna	60
2.5.8.1. Efeito do Meloxicam na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	60

2.5.8.2. Efeito do Meloxicam na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	61
2.5.9. Avaliação do Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr.All. (Aroeira do Sertão) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Aroeira do Sertão e do Mesna.....	62
2.5.9.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr.All. (Aroeira do Sertão) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	62
2.5.9.2. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr.All. (Aroeira) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	63
2.5.10. Avaliação do Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos do Mentrasto e do Mesna.....	64
2.5.10.1. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	64
2.5.10.2. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS).....	65
2.5.11. Avaliação do Efeito da Ternatina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Ternatina e do Mesna.....	65
2.5.11.1. Efeito Ternatina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	65
2.5.11.2. Efeito da Ternatina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida(IFS).....	66
2.6. Análise Estatística.....	67
3 RESULTADOS.....	68
3.1. Avaliação do efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (<i>ip</i>) na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	69
3.1.1. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (<i>ip</i>) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS).....	69
3.1.2. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (<i>ip</i>) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS).....	70
3.2. Avaliação do efeito da dexametasona administrada por via intraperitoneal (<i>ip</i>) na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS).....	75

3.2.1. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (ip) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)	75
3.2.2. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (ip) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)	75
3.3. Avaliação dos efeitos da Dexametasona administrada por via oral (vo) na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS)	80
3.3.1. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)	80
3.3.2. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)	80
3.4. Avaliação dos efeitos da Dexametasona administrada por via oral (vo) na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)	85
3.4.1. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)	85
3.4.2. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)	85
3.5. Avaliação do efeito da administração de apenas uma dose de mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS)	90
3.5.1. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)	90
3.5.2. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)	90
3.6. Avaliação do efeito da administração de apenas uma dose de mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)	95
3.6.1. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)	95
3.6.2. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)	95
3.7. Avaliação do Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação de (Mesna + Dexametasona) na Potenciação da Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS), quando comparado com o Efeito de Três Doses de Mesna	100
3.7.1. Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação (Mesna + Dexametasona), no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)	100
3.7.2. Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação (Mesna + Dexametasona), sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)	101
3.8. Avaliação do percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas (microscópicas) das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 doses de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida	105

3.9. Avaliação do percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas (microscópicas) das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 doses de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	107
3.10. Avaliação dos efeitos de Drogas Antiinflamatórias Não-Esteroidais (DAINES) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS) e ifosfamida (IFS).....	109
3.10.1. Efeito da Indometacina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	109
3.10.1.1. Efeito da Indometacina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS).....	109
3.10.1.2. Efeito da Indometacina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS).....	110
3.10.2. Efeito da Indometacina na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS).....	115
3.10.2.1. Efeito da Indometacina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS).....	115
3.10.2.2. Efeito da Indometacina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS).....	115
3.10.3. Efeito do Meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	120
3.10.3.1. Efeito do Meloxicam no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS).....	120
3.10.3.2. Efeito do Meloxicam sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS).....	120
3.10.4. Avaliação dos efeitos do Meloxicam na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS).....	125
3.10.4.1. Efeito do Meloxicam no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS).....	125
3.10.4.2. Efeito do Meloxicam sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS).....	125
3.11. Avaliação dos efeitos de Produtos Naturais, com atividade antiinflamatória cientificamente comprovada, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS) e ifosfamida (IFS).....	130
3.11.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	130
3.11.1.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr All. (Aroeira do Sertão) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS).....	130
3.11.1.2. Efeito do Extrato Hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr All. (Aroeira do Sertão) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS).....	131

3.11.2. Avaliação dos efeitos do Extrato Hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS).....	136
3.11.2.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr All. (Aroeira do Sertão) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS).....	136
3.11.2.2. Efeito do Extrato Hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr All. (Aroeira do Sertão) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS).....	137
3.11.3. Avaliação do efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS).....	142
3.11.3.1. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS).....	142
3.11.3.2. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS).....	143
3.11.4. Avaliação do efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS).....	148
3.11.4.1. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS).....	148
3.11.4.2. Efeito da Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto), sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS).....	149
3.11.5. Efeito da Ternatina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	154
3.11.5.1. Efeito da Ternatina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS).....	154
3.11.5.2. Efeito da Ternatina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS).....	154
3.11.6. Efeito da Ternatina na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS).....	159
3.11.6.1. Efeito da Ternatina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS).....	159

3.11.6.2. Efeito da ternatina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS).....	159
4 DISCUSSÃO.....	164
5 CONCLUSÕES.....	181
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	184
7 PUBLICAÇÃO.....	212

LISTA DE ABREVIATURAS

AIFS	Aldoifosfamida
AI	Antiinflamatório
ANOVA	Análise de Variância
AP-1	Fator ativador da proteína -1
α	Alfa
β	Beta
CarboxiIFS	Carboxiifosfamida
CCl ₄	Tetracloroeto de carbono
4-cetoIFS	4-cetoifosfamida
CFS	Ciclofosfamida
COX	Ciclooxigenase
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
DAINES	Drogas antiinflamatórias não-esteroidais
2-decloroetilIFS	2-decloroetilifosfamida
3-decloroetilIFS	3-decloroetilifosfamida
DIMESNA	Ditiodietanosulfonato
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EPM	Erro padrão da média
ev	Via Endovenosa
fMLP	N-formil-metionil-L-leucil-L-fenilalanina
FSA	Fração solúvel em água
FT	Fração de Taninos
g	Gramas
HE	Hematoxilina e eosina
4-hidroxiIFS	4-hidroxiifosfamida
IFM	Isofosforamida
IFS	Ifosfamida
IgE	Imunoglobulina-E
IgG	Imunoglobulina-G

IL-1	Interleucina-1
IL-2	Interleucina-2
IL-3	Interleucina-3
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
I κ B α	Proteína inibitória kappa B alfa
ip	Via Intra-peritoneal
kg	Kilogramas
KGF	Fator de crescimento de queratinócitos
LAFICA	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer
L-NAME	Éster metil L-N ^G -nitroarginina
L-NOARG	L-N ^G -Nitroarginina
LTB ₄	Leucotrieno B4
MESNA	2-mercaptoetano-sulfonato de sódio
mg	Miligramas
mL	Mililitro
n	Número
NADPH	Fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo, forma reduzida
NF- κ B	Fator nuclear-kappa B
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
PAF	Fator de ativação plaquetária
PCA	Anafilaxia cutânea passiva
QAA	Quimioterápico antineoplásico alquilante
RNA	Ácido ribonucléico
sc	Via sub-cutânea
SNC	Sistema nervoso central
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
vo	Via oral
μ g	Microgramas
γ	Gama

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
FIGURA 1 – Estruturas químicas das oxazafosforinas: ciclofosfamida e ifosfamida.....	2
FIGURA 2 – Metabolismo da ciclofosfamida.....	4
FIGURA 3 – Metabolismo da ifosfamida.....	9
FIGURA 4 – Estrutura molecular do mesna (2-mercaptoetanosulfonato de sódio).....	21
FIGURA 5 – Representação esquemática da quebra espontânea da 4-hidroxíciclofosfamida para formar a acroleína e a mostarda de fosforamida, seguido da detoxificação da acroleína pela reação química com o mesna para formar um tioéster relativamente não tóxico.....	23
FIGURA 6 – Aspecto macroscópico da bexiga de um rato normal (A) ou das bexigas de ratos com cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (B) e ifosfamida (C).....	50
FIGURA 7 - Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (<i>ip</i>) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	72
FIGURA 8 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via intra-peritoneal na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	74
FIGURA 9 - Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (<i>ip</i>) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	77
FIGURA 10 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via intra-peritoneal na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	79
FIGURA 11 - Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (<i>vo</i>) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	82
FIGURA 12 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via oral na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	84
FIGURA 13 - Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (<i>vo</i>) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	87
FIGURA 14 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via oral na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	89
FIGURA 15 - Efeitos do tratamento com apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	92

FIGURA

PÁGINA

FIGURA 16 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida....	94
FIGURA 17 - Efeitos do tratamento com apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	97
FIGURA 18 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	99
FIGURA 19 - Efeitos do uso de uma dose de mesna + duas doses da associação (mesna + dexametasona) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)....	102
FIGURA 20 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos de uma dose de mesna + a associação (mesna+dexametasona) na potenciação da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	104
FIGURA 21 - Efeitos dos diferentes tratamentos com indometacina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	112
FIGURA 22 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da indometacina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	114
FIGURA 23 - Efeitos dos diferentes tratamentos com indometacina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	117
FIGURA 24 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da indometacina na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	119
FIGURA 25 - Efeitos dos diferentes tratamentos com meloxicam (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	122
FIGURA 26 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	124
FIGURA 27 - Efeitos dos diferentes tratamentos com meloxicam (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	127
FIGURA 28 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	129
FIGURA 29 - Efeitos dos diferentes tratamentos com o extrato hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Aroeira) (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	133
FIGURA 30 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do extrato hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	135

FIGURA	PÁGINA
FIGURA 31 - Efeitos dos diferentes tratamentos com o extrato hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Aroeira) (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	139
FIGURA 32 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do extrato hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	141
FIGURA 33 - Efeitos dos diferentes tratamentos com a fração aquosa do extrato das folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto) em etanol a 70% (ip), no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	145
FIGURA 34 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	147
FIGURA 35 - Efeitos dos diferentes tratamentos com a fração aquosa do extrato das folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto) em etanol a 70% (ip), no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	151
FIGURA 36 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	153
FIGURA 37 - Efeitos dos diferentes tratamentos com a ternatina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	156
FIGURA 38- Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da ternatina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.....	158
FIGURA 39 - Efeitos dos diferentes tratamentos com a ternatina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	161
FIGURA 40 - Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da ternatina na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.....	163

LISTA DE TABELAS

TABELA	PÁGINA
TABELA 1 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (<i>ip</i>) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	73
TABELA 2 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (<i>ip</i>) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	78
TABELA 3 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (<i>vo</i>) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	83
TABELA 4 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (<i>vo</i>) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	88
TABELA 5 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	93
TABELA 6 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	98
TABELA 7 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos de uma dose de mesna + duas doses da associação (mesna+dexametasona) na potenciação da inibição da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	103
TABELA 8 – Percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	106
TABELA 9 – Percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	108
TABELA 10 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da indometacina (<i>sc</i>) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	113
TABELA 11 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da indometacina (<i>sc</i>) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	118
TABELA 12 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do meloxicam (<i>vo</i>) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	123
TABELA 13 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do meloxicam (<i>vo</i>) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).	128

TABELA

PÁGINA

TABELA 14 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do extrato hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Aroeira) (vo) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	134
TABELA 15 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do extrato hidroalcoólico da casca de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Aroeira) (vo) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	140
TABELA 16 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da fração aquosa do extrato das folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto) em etanol a 70% (ip), na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	146
TABELA 17 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da fração aquosa do extrato das folhas de <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Mentrasto) em etanol a 70% (ip), na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	152
TABELA 18 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da ternatina (sc) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS).....	157
TABELA 19 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da ternatina (sc) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).....	162

RESUMO

Alternativas terapêuticas na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida com drogas antiinflamatórias: Um estudo experimental comparativo com o Mesna – MILENA MAIA DE MORAIS. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Data da Defesa: 27 de Julho de 2000. Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro.

A cistite hemorrágica (CH) é um para-efeito limitante do uso clínico dos anti-neoplásicos, ciclofosfamida (CFS) e ifosfamida (IFS). O mesna é a droga de escolha para prevenção da CH. Dados anteriores do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer da Universidade Federal do Ceará, demonstraram que o óxido nítrico, o fator de ativação plaquetária e citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa e a interleucina-1 são mediadores cruciais envolvidos nos eventos inflamatórios da CH, bem como no dano urotelial e hemorragia. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de drogas antiinflamatórias (DAI), como os glicocorticóides (dexametasona), inibidores seletivos para ciclooxigenase 1 e 2 (indometacina e meloxicam, respectivamente), e produtos naturais com atividade antiinflamatória cientificamente comprovada, como a *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão), o *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) e a ternatina, um flavonóide isolado de *Egletes viscosa* Less. (Macela), na prevenção da CH induzida por CFS e IFS. Para tanto, ratos *Wistar* machos (150-200 g; n=6 por grupo) foram tratados com salina ou mesna imediatamente antes, e 4 e 8 h, ou 2 e 6 h depois da administração de CFS ou IFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de mesna foram substituídas pelas DAI, ou as 2 últimas doses de mesna foram substituídas por salina, ou pela associação (mesna+dexametasona). 24 h depois da administração da CFS ou IFS, a CH foi avaliada através do peso úmido vesical (PUV) e análises macro e microscópicas das bexigas. O tratamento com CFS ou IFS induziu aumento do PUV, que foi significativamente ($p < 0,05$) inibido pelo uso de 3 doses de mesna, e também pela substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna pelas DAI. A substituição das 2 últimas doses de mesna pela associação (mesna+dexametasona) promoveu uma potenciação na inibição do aumento do PUV induzido por IFS. A análise macroscópica das bexigas dos ratos com CH induzida por CFS ou IFS, mostrou edema e hemorragia severos e a análise microscópica mostrou erosão de mucosa, infiltração celular inflamatória e ulcerações. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna pelas DAI ou a substituição das 2 últimas doses de mesna pela associação (mesna+dexametasona) quase aboliram as alterações macro e microscópicas. Entretanto, a substituição das 3 doses de mesna pelas DAI ou a substituição das 2 últimas doses de mesna por salina, não preveniram a CH. Deste modo, concluiu-se que, a substituição das 2 últimas doses de mesna pelas DAI ou pela associação (mesna+dexametasona) poderiam ser alternativas terapêuticas, se testadas na clínica, para a prevenção da CH induzida por CFS e IFS, entretanto o mesna é necessário para a uroproteção inicial.

ABSTRACT

Therapeutic alternatives for the prevention of cyclophosphamide- and ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis with antiinflammatory drugs: An experimental study in comparison with Mesna – MILENA MAIA DE MORAIS. Dissertation submitted as a partial fulfillment for requirement to master's degree in Pharmacology to the Postgraduation Pharmacology Course of the Physiology and Pharmacology Department of the Medicine Faculty of Federal University of Ceará. Defense date: 2000, July 27. Professor: Ronaldo de Albuquerque Ribeiro.

Hemorrhagic cystitis (HC) is a therapy-limiting side effect of antineoplastic agents such as cyclophosphamide (CYP) and ifosfamide (IFS). Mesna is the drug of choice to prevent HC. Previous data, from the Laboratory of Pharmacology of Inflammation and Cancer, of Federal University of Ceará, have demonstrated that nitric oxide, platelet-activating factor and cytokines, like tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 are crucial mediators involved in inflammatory events of HC, as well as in the urothelial damage and hemorrhage. Thus, the present study aimed to evaluate the effects of anti-inflammatory drugs (AID), such as glucocorticoids (dexamethasone), selective cyclooxygenase 1 and 2 inhibitors (indomethacin and meloxicam, respectively) and natural products, such as *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira do Sertão), *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) and ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. (Macela), for the prevention of CYP- and IFS-induced HC. For this, male Wistar rats (150-200 g; n=6 per group) were treated with saline or mesna immediately and 4 and 8 hours, or 2 and 6 hours after administration of CYP or IFS. In other experimental groups, 1, 2 or 3 doses of mesna were replaced with AID, or the last two doses of mesna were replaced with saline or with the association (mesna+dexamethasone). 24 h after de administration of CYP or IFS, HC was evaluated by determining the changes in bladder wet weight (BWW) and by macroscopic and microscopic analysis. CYP and IFS treatment induced a marked increase in BWW, which was significantly ($p < 0.05$) inhibited by treatment with 3 doses of mesna, and also by the replacement of 2^a or 3^a doses of mesna with AID. The replacement of the last two doses of mesna with the association (mesna+dexamethasone) promoted a marked inhibition of the increased in BWW induced by IFS. Macroscopic analysis of the bladder of rats with CYP- or IFS-induced HC showed severe edema and hemorrhage and microscopic analysis showed mucosal erosion, inflammatory cell infiltration and ulcerations. The replacement of 2^a or 3^a doses of mesna with AID or the replacement of the last two doses of mesna with the association (mesna+dexamethasone) almost abolished the macroscopic and microscopic alterations. However, the replacement of 3 doses of mesna with AID or the replacement of the last two doses of mesna with saline, did not prevent HC. In conclusion, the replacement of the last two doses of mesna with AID or with the association (mesna+dexamethasone) could be therapeutic alternatives, if they were clinically tested for the prevention of CYP- or IFS-induced HC, however, mesna is necessary for the initial uroprotection.

PRÓLOGO

A despeito do estigma de incurabilidade, mesmo em países subdesenvolvidos e/ou em desenvolvimento, a terapêutica do câncer com drogas, a chamada Quimioterapia apresentou um grande avanço nas duas últimas décadas, com grandes mudanças na prática médica, apresentando tratamentos curativos para malignidades previamente fatais, tais como câncer testicular, linfomas e leucemia. Novas drogas estão sendo usadas na clínica para doenças que eram anteriormente consideradas sem cura ou amenizadas apenas com terapia local, como a cirurgia e a irradiação. Atualmente, a quimioterapia adjuvante rotineiramente segue o tratamento local do câncer de mama, do câncer de cólon e do câncer retal, e doses mais altas de quimioterapia são, geralmente, empregadas em pacientes com sarcomas de partes moles, sarcomas pediátricos, e câncer de mama e linfomas.

A natureza e as pesquisas básicas para o tratamento do câncer estão constantemente mudando. Os protocolos clínicos mais atuais estão explorando terapias genéticas, manipulações do sistema imune, estimulação de elementos hematopoiéticos normais, indução da diferenciação em tecidos tumorais, inibição da angiogênese e ainda uma gama extensa de novas drogas e associações de drogas. Algumas drogas utilizadas na terapia citotóxica antitumoral têm-se tornado componentes importantes em regimes imunossupressivos para artrite reumatóide (metotrexato e ciclofosfamida), para o transplante de órgãos (metotrexato e azatioprina), quimioterapia antiinfeciosa (trimetrexato e leucovorin) e psoríase (metotrexato). Assim, um amplo espectro de especialistas clínicos, cirúrgicos e pediátricos empregam estas drogas para doenças neoplásicas e não-neoplásicas.

Entretanto, agentes anticâncer, como muitas outras drogas potentes, com apenas moderada seletividade, podem causar efeitos adversos. Nestas circunstâncias, o médico deve adequar as facilidades disponíveis para proporcionar uma terapia auxiliar vigorosa, entre as quais estão a transfusão plaquetária, a administração do alopurinol para prevenir as complicações da hiperuricemia, agentes anti-eméticos mais poderosos tais como os antagonistas seletivos do receptor 5-HT₃, e o uso empírico de antibióticos de

amplo espectro em pacientes neutropênicos febris, todas essas terapias têm sido adotados amplamente. Outras terapias auxiliares como o transplante de medula óssea, as transfusões de células tronco periféricas e fatores de crescimento hematopoiéticos estão sendo usados com grande freqüência.

Adicionalmente, o surgimento de alguns efeitos colaterais específicos, tais como cardiotoxicidade, nefrotoxicidade, mucosite, fibrose pulmonar, neurotoxicidade e cistite hemorrágica entre outros, têm limitado o uso das drogas que, respectivamente os provocam, como a doxorrubicina, compostos de platina, antimetabólitos, bleomicina, taxanes, ciclofosfamida e ifosfamida. Nesse contexto, seria bom lembrar que tão importante quanto descobrir novas drogas e/ou tipos mais modernos de terapia antitumoral é, poder usar, na sua plenitude aquelas que têm consagrados os seus potentes efeitos antitumorais. Para tanto, torna-se necessário um maior conhecimento da patogênese desses efeitos, o que conseqüentemente poderá levar a novas abordagens terapêuticas.

Aqui, no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA), esta busca tem sido uma meta perseguida. O que registra-se nas próximas páginas é, uma tentativa de encontrar alternativas terapêuticas para um tipo particular de efeito adverso da quimioterapia do câncer, a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida.

* Baseado em informações retiradas do texto: "Chemotherapy of Neoplastic Diseases" de Paul Calabresi e Bruce A. Chabner, Seção X, pp. 1225 do livro: "The Pharmacological Basis of Therapeutics. Hardman, J.G.; Limbird, L.E.; Molinoff, P.B.; Ruddon, R.W. e Gilman, A.G. (Editores), 9ª Edição, 1996.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1. Oxazafosforinas

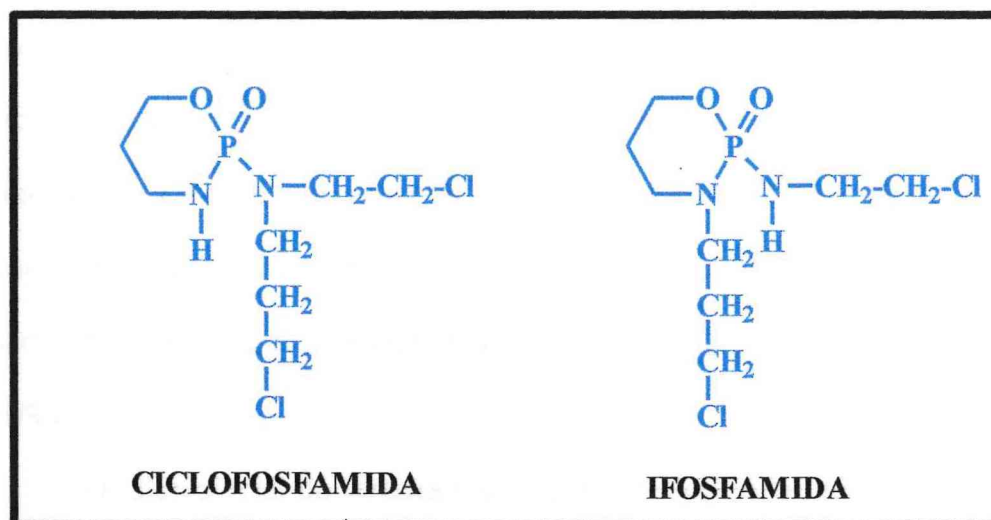


FIGURA 1. Estruturas químicas da Ciclofosfamida e Ifosfamida

1.1.1. Ciclofosfamida

A Ciclofosfamida é um éster fosforamídico cíclico (Ver Figura 1), que foi sintetizado em 1958 (BOURSCAUX & BROCK, 1958) e está no grupo de agentes quimioterápicos antineoplásicos alquilantes (SAFRON *et al.*, 1997). As atividades farmacológicas fundamentais dos agentes alquilantes incluem, a interrupção do crescimento da célula, da atividade mitótica e da diferenciação e também da função celular, principalmente através da ligação cruzada das fitas do ácido desoxiribonucleico (DNA). A capacidade da ciclofosfamida de interferir com a divisão celular normal de todos os tecidos em rápida proliferação, proporciona as bases de seus efeitos terapêuticos e de muitas de suas

toxicidades (FRAISER *et al.*, 1991). Assim, os efeitos anti-tumorais dos agentes alquilantes parecem estar relacionados com a sua habilidade em estabelecer ligações covalentes com as bases nitrogenadas do DNA, através de grupos alquilas, ou seja, através de radicais de hidrocarbonetos que se ligam a cadeias principais de compostos orgânicos. O resultado desta alquilação é a produção da quebra na molécula de DNA e da ligação cruzada em seu duplo filamento. Como consequência, há interferência com a duplicação do DNA e a transcrição do ácido ribonucléico (RNA) impedindo, dentre outras coisas, a ocorrência da divisão celular. (HASKELL, 1990; CALABRESI & CHABNER, 1990).

O fator crucial da terapia com ciclofosfamida e de seus efeitos colaterais é a necessidade da ativação metabólica (Ver Figura 2). Por ser uma pró-droga, a ciclofosfamida tem seus metabólitos ativos originados preferencialmente no fígado, e em menor extensão em outros tecidos (FRAISER *et al.*, 1991). Depois da administração oral ou intravenosa, a ciclofosfamida é ativada no fígado pelo sistema de oxidase de função mista do citocromo P450 a metabólitos ativos como a 4-hidroxíciclofosfamida e a aldofosfamida. A aldofosfamida é transportada para os tecidos suscetíveis através do sistema circulatório onde é clivada pela reação de β -eliminação para uma mostarda de fosforamida (uma mostarda nitrogenada) e acroleína (CALABRESI & CHABNER, 1990). A mostarda nitrogenada forma ligações covalentes com as bases nitrogenadas do DNA para impedir a replicação celular e produzir um efeito citotóxico (FISCHER, 1982). A acroleína, no entanto, é responsável pelo dano urotelial (COX, 1979; BROCK *et al.*, 1979 apud BRADE *et al.*, 1986). Experimentos em animais têm mostrado que a cistite induzida por ciclofosfamida é o resultado do

contato entre a urina tóxica (contendo acroléina) e o epitélio da bexiga (PHILIPS *et al.*, 1961). Embora todo o sistema urinário esteja em risco, a bexiga é a mais suscetível devido ao tempo prolongado de exposição a urina tóxica (STILLWELL & BENSON, 1988). Acredita-se, geralmente, que os metabólitos da clormetina (incluindo a mostarda de fosforamida e a mostarda não-nitrogenada) são responsáveis pelos efeitos terapêuticos, e a acroléina a responsável pelos efeitos tóxicos da ciclofosfamida (FRAISER *et al.*, 1991).

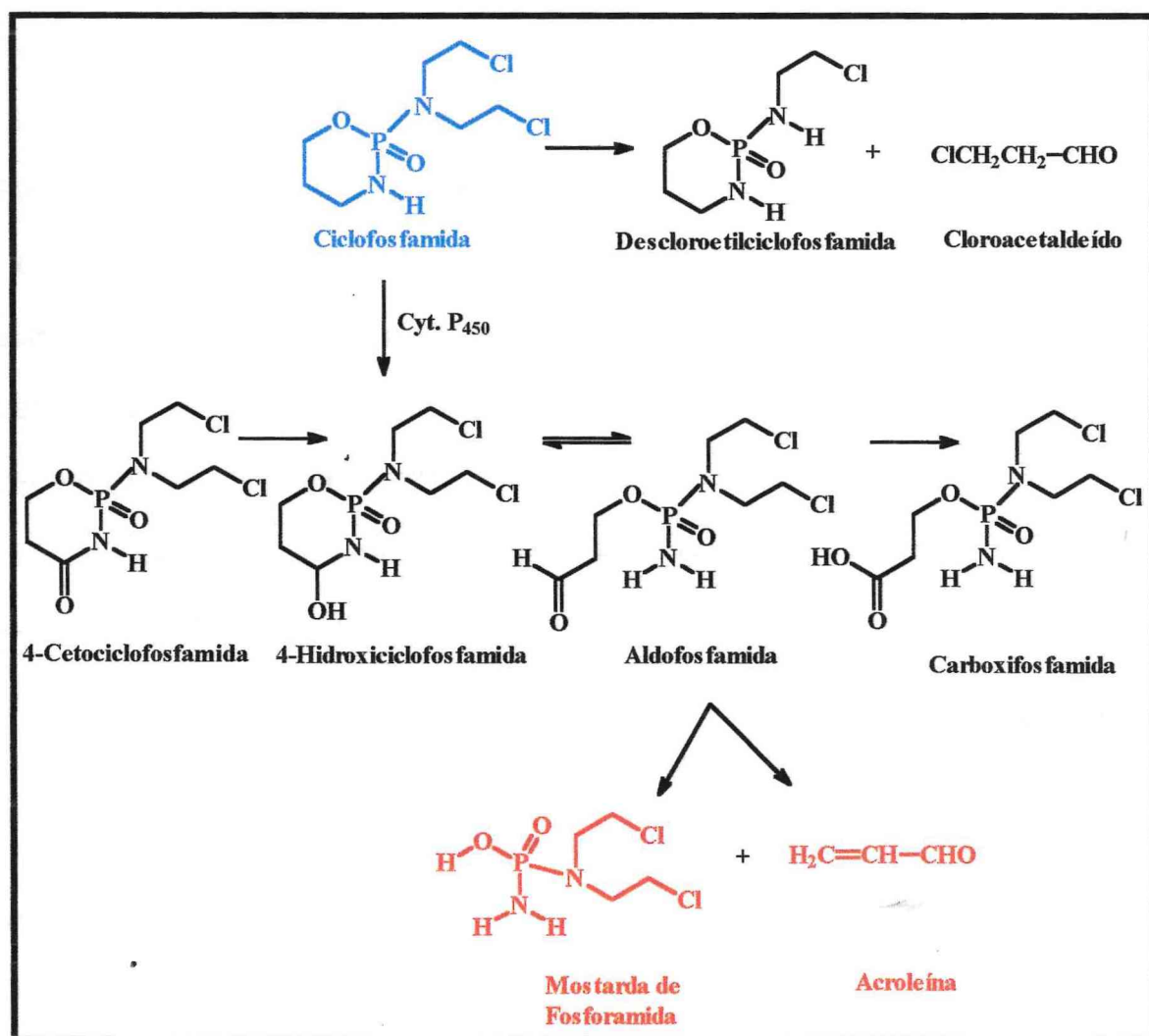


FIGURA 2. Metabolismo da Ciclofosfamida

Uma quantidade mínima de ciclofosfamida é encontrada inalterada na urina e nas fezes depois de sua administração intravenosa. A concentração

plasmática máxima de ciclofosfamida ocorre 1 hora após a sua administração oral, e a meia-vida plasmática é de aproximadamente 7 horas (CHABNER *et al.*, 1996).

A ciclofosfamida possui um amplo espectro de usos clínicos e é um componente essencial de numerosas combinações de regimes quimioterápicos. Esta droga pode ser usada sozinha ou em combinação com outros agentes quimioterápicos, para o tratamento de neoplasias tais como a Doença de Hodgkin, o linfoma de Burkitt, leucemias, e câncer de mama, pulmão, cervix, ovário e cérebro (MONTVALE, 1993 apud SAFRON *et al.*, 1997). Além disso, a ciclofosfamida, também é utilizada no tratamento de doenças não neoplásicas, tais como, purpura trombocitopênica, artite reumatóide, lupus eritematoso sistêmico, síndrome nefrótica, granulomatose de Wegener e, também, está sendo utilizada antes do transplante de medula óssea (LEVINE & RICHIE, 1989).

Mundialmente, a ciclofosfamida é usada em aproximadamente 500000 pacientes por ano. As toxicidades órgão-específicas e os tumores secundários são raros com doses normais. No entanto, quando as doses são geralmente aumentadas para níveis muito elevados [240 mg/kg tem sido reportado (NEWELL & GORE, 1991)] as toxicidades ocorrem, ocasionando situações de toxicidade dose-limitantes e também uma ameaça de vida (FRAISER *et al.*, 1991).

Os efeitos indesejáveis da ciclofosfamida incluem mielossupressão relacionada com a dose, alopecia e náusea. Os efeitos urotóxicos, que são os fatores limitantes para o seu uso, variam de sensação transitória de esvaziamento e irritação, incluindo frequência urinária, disúria, urgência,

desconforto suprapúbico e urina com microhematúria, a cistite hemorrágica (BENNETT, 1974; SHROM *et al.*, 1976). Fibrose, necrose e contractura da bexiga e refluxo vesicoureteral também tem sido reportado (JOHNSON *et al.*, 1971; RENERT *et al.*, 1973).

A cistite hemorrágica, uma frequente complicação da administração da ciclofosfamida (BERKSON *et al.*, 1973), foi primeiramente reportada em pacientes por Coggins e colaboradores em 1959 (COGGINS *et al.*, 1959). A incidência da cistite hemorrágica varia de 2 a 40% em pacientes sem prevenção e pode chegar a 68% com a administração de elevadas doses em preparações para o transplante de medula óssea (BENNETT, 1974; WATSON & NOTLEY, 1973; SCHMITZ & GROSS, 1967). Droller e colaboradores reportaram uma mortalidade de 75% em pacientes com enorme hemorragia que foram tratados com altas doses de ciclofosfamida (DROLLER *et al.*, 1982). Spechter e colaboradores reportaram que em 440 pacientes tratados com baixas doses de ciclofosfamida houve 10% de incidência de cistite e 10 destes pacientes morreram de complicações da cistite hemorrágica (SPECHTER *et al.*, 1965).

Adicionalmente, pneumonite intersticial e fibrose pulmonar são alterações pulmonares, mais comuns, associadas à quimioterapia com ciclofosfamida (BURKE *et al.*, 1982; COOPER *et al.*, 1986; PATEL *et al.*, 1976; RODIN *et al.*, 1970). A incidência de toxicidade pulmonar induzida por ciclofosfamida ocorre em apenas 1% dos pacientes tratados (COOPER *et al.*, 1986). Santos e colaboradores em 1971, reportaram o primeiro caso de cardiomiopatia induzida por ciclofosfamida em humanos. Desde então, mais de 20 casos de complicações cardíacas têm sido descritas com altas doses de

ciclofosfamida (HOPKINS *et al.*, 1982; MILLS & ROBERTS, 1979; O'CONNELL & BARENBAUM, 1974), embora a ciclofosfamida não apresente toxicidade cardíaca nas doses padrão usadas para a maioria das doenças neoplásicas (FRAISER *et al.*, 1991). Também, a ciclofosfamida apresenta efeitos reprodutivos, ocasionando azoospermia e falência ovariana, depois de um período prolongado de tratamento (GERSHWIN *et al.*, 1974). Teratogênese também tem sido reportada quando altas doses intravenosas são administradas durante o segundo mês de gravidez (TOLEDO *et al.*, 1971). O desenvolvimento de um câncer secundário ao tratamento com ciclofosfamida é um evento raro. No entanto, pacientes que desenvolveram cistite hemorrágica podem apresentar uma maior probabilidade de desenvolver câncer secundário da bexiga ou de outros locais do trato urinário, particularmente se obstrução estiver presente (FRAISER *et al.*, 1991).

1.1.2. Ifosfamida

A ifosfamida, uma oxazafosforina, sintetizada em 1965 pelos Laboratórios de Pesquisa da Asta, no oeste da Alemanha, foi introduzida na clínica no início dos anos setenta (HIGGS *et al.*, 1989). Diferentemente da ciclofosfamida, que é um verdadeiro derivado da mostarda nitrogenada, no qual ambos os grupos cloroetil são ligados ao mesmo nitrogênio do exociclo, a molécula da ifosfamida contém um dos dois grupos cloroetil ligado ao nitrogênio do endociclo (Ver Figura 1) (SAROSY, 1989). Esta diferença na estrutura química, entre a ifosfamida e a ciclofosfamida, está diretamente relacionada com modificações físico-químicas, tais como, maior solubilidade

em água da ifosfamida e também diferentes propriedades farmacológicas e toxicológicas (BROCK, 1977 apud BRADE *et al.*, 1986; CREAVER *et al.*, 1974; WAGNER *et al.*, 1981).

A ifosfamida, como a ciclofosfamida, é inativa *in vitro* e sofre hidroxilação do carbono 4 do anel para adquirir atividade alquilante *in vivo*. Assim, a ifosfamida deve ser primeiramente metabolizada para depois expressar sua citotoxicidade (Ver Figura 3) (KAIJSER *et al.*, 1993). O passo inicial na biotransformação da ifosfamida é a hidroxilação do átomo de carbono 4 do anel pelo sistema de oxidase de função mista do citocromo P450 no fígado, resultando nos produtos 4-hidroxiifosfamida (4-hidroxiIFS) e, possivelmente, o seu tautômero de anel aberto, a aldoifosfamida (AIFS). A hidroxilação enzimática em 4-hidroxiIFS leva a formação das espécies alquilantes que são as mostardas de isofosforamida (IFM) e, a liberação da acroleína (CONNORS *et al.*, 1974 e LOW *et al.*, 1983). Este processo parece ser catalisado pelas 3',5'-exonucleases, que são encontradas no soro, linfócitos e tecidos linfáticos. A atividade catalítica não está presente no fígado, músculo, coração, cérebro ou eritrócitos (SLADEK, 1987). O caminho de desativação deste metabolismo complexo acontece pela desidrogenação da 4-hidroxiIFS a 4-cetoifosfamida (4-cetoIFS) ou pela desidrogenação da AIFS a carboxiifosfamida (carboxiIFS). Esta desidrogenação enzimática irreversível é catalisada pela aldeído desidrogenase e/ou pelas aldeído oxidases. Devido ao baixo nível destas enzimas nas células tumorais em comparação com as células normais, ocorre apenas uma desativação limitada nas células tumorais, sendo esta uma das causas da ação citotóxica seletiva nos tumores. Linhagens de células tumorais resistentes parecem apresentar uma maior atividade da aldeído desidrogenase

(BROCK, 1989 e LIND & ROBERTS, 1990). A oxidação em um dos grupos cloretoil, também leva a desativação da ifosfamida, promovendo a formação do cloroacetaldeído e dos metabólitos não-citotóxicos 2- e 3-descloroetilifosfamida (2- e 3-descloroetilIFS). Uma das maiores diferenças entre as conversões metabólicas da ifosfamida e da ciclofosfamida é que, em relação a ifosfamida, a decloroetilação é o mais importante caminho do metabolismo (para ifosfamida, 48%; para ciclofosfamida, 10%). Isto pode ser explicado pela baixa afinidade das enzimas de 4-hidroxiilação da ifosfamida em comparação com a ciclofosfamida (BRADE *et al.*, 1985).

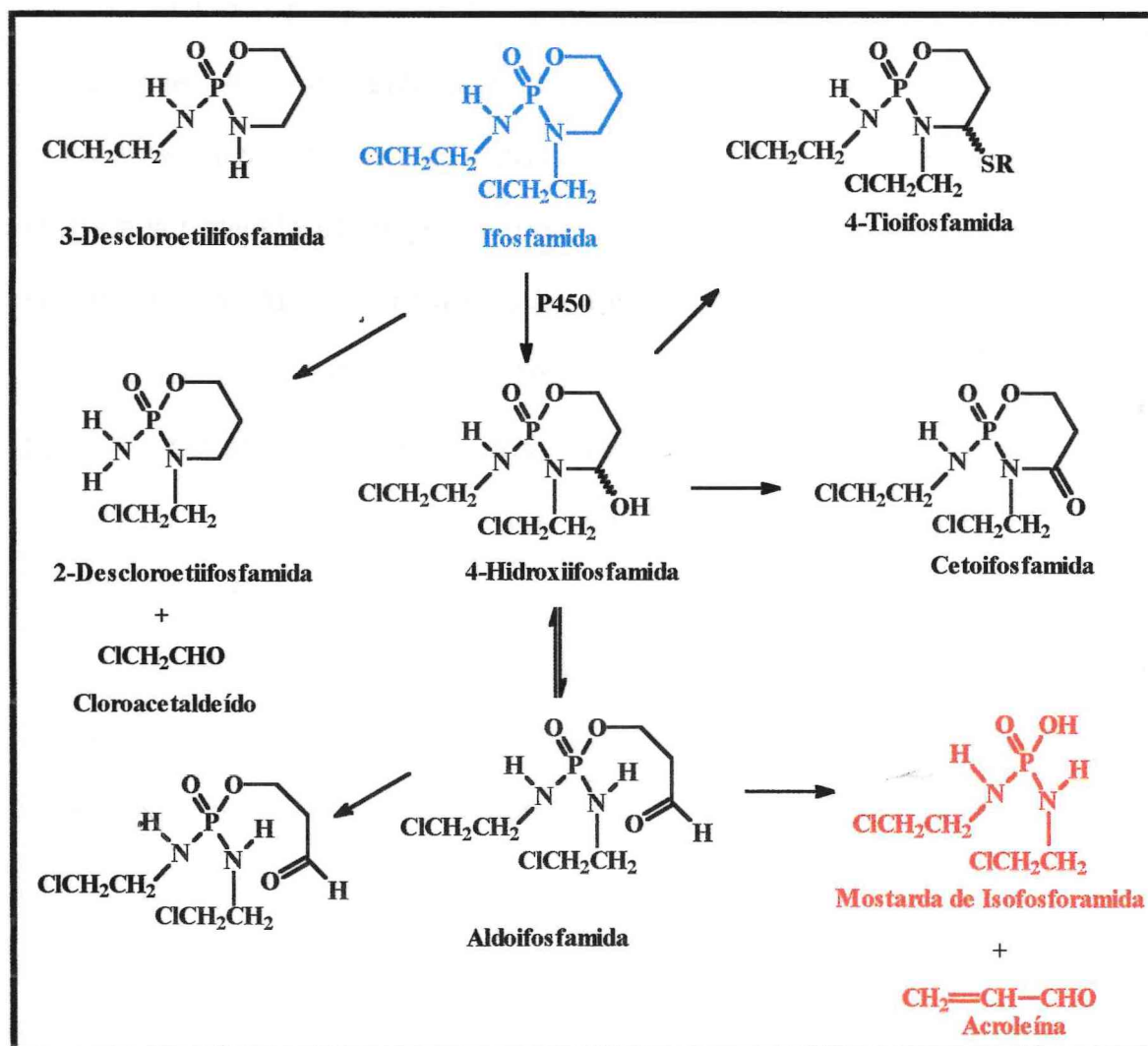


FIGURA 3. Metabolismo da Ifosfamida

Muitos metabólitos da ifosfamida possuem atividade citotóxica *in vitro*: 4-hidroxiIFS, IFM, carboxiIFS e decloroetilIFS. A 4-hidroxiIFS parece ser a forma de transporte para o último composto alquilante IFM, porque este pode entrar nas células mais facilmente que a mostarda polar. Em testes *in vitro* a 4-hidroxiIFS mostra a maior citotoxicidade específica, uma vez que, devido a pobre penetração nas células, a IFM é pouco citotóxica *in vitro* (ARNDT *et al.*, 1988). Os metabólitos ativos da ifosfamida promovem alquilação do DNA, resultando na morte celular; a droga não é ciclo celular específico (SAROSY, 1989).

Entendendo-se o metabolismo da ifosfamida e sua farmacologia, torna-se mais fácil o planejamento de horários apropriados de administração. Uma única dose alta pode saturar a enzima ativa, ao passo que horários de administração com doses fracionadas pode permitir uma maior quantidade de droga a ser ativada ao longo do curso do tratamento. Adicionalmente, por ser suficientemente longa a meia-vida da ifosfamida ($t_{1/2} = 6-16$ h) (ZALUPSKI & BAKER, 1988; NELSON *et al.*, 1976), horários fracionados de administração podem resultar em aumento dos níveis plasmáticos dos metabólitos de ifosfamida e o aumento da sua difusão no compartimento periférico (MEANWELL *et al.*, 1986).

A ifosfamida tem sido usada em várias formas de câncer, como: câncer de testículo, sarcomas de tecidos moles, câncer de pulmão, osteosarcomas, câncer de ovário, linfomas, etc. (DECHANT *et al.*, 1991; BROCK *et al.*, 1988; BRADE *et al.*, 1985; ZALUPSKI & BAKER, 1988; LOEHRER, 1990). Algumas vezes a ifosfamida mostra atividade onde a ciclofosfamida já falhou antes. Por ter baixa mielossupressão e não proporcionar resistência pelo tumor quando comparada com a ciclofosfamida, a ifosfamida torna-se uma droga ideal para

inclusão em regimes combinados de quimioterapia (HIGGS *et al.*, 1989). A ifosfamida também tem sido usada como um agente imunossupressivo (DECHANT, 1991; BROCK *et al.*, 1988).

Assumindo-se que a atividade antineoplásica, como também os possíveis efeitos colaterais, estejam relacionados com as concentrações dos metabólitos de ifosfamida, pode-se concluir que o fracionamento da terapia com ifosfamida leve a um aumento, dependente de tempo, tanto da atividade desejada quanto dos efeitos indesejados da ifosfamida (KUROWSKI & WAGNER, 1997). O principal efeito adverso que é dose limitante para ifosfamida é a cistite hemorrágica, com irritação na bexiga que leva a uma microscópica ou grave hematúria. O fator causador das propriedades urotóxicas da ifosfamida é o seu metabólito altamente reativo chamado acroleína (BROCK *et al.*, 1979 apud BRADE *et al.*, 1986; DRAEGER *et al.*, 1976; BRADE *et al.*, 1985; ZALUPSKI & BAKER, 1988). Acreditava-se que o metabólito 4-hidroxi-ifosfamida era o causador da urotoxicidade da ifosfamida (BROCK *et al.*, 1988; BROCK, 1983 apud KAIJSER *et al.*, 1993), mas já se sabe que a urotoxicidade da acroleína é em ordem de magnitude muito maior do que a da 4-hidroxi-ifosfamida (SLADEK, 1987). A 4-hidroxi-ifosfamida se decompõe depois da filtração glomerular, levando a liberação de acroleína na urina. A acroleína ataca os epitélios renal e vesical, o que explica sua alta toxicidade (BROCK *et al.*, 1979 apud BRADE *et al.*, 1986). A acroleína também pode reagir imediatamente com numerosas moléculas.

Além da toxicidade na bexiga, a ifosfamida também pode causar nefrotoxicidade (Síndrome de Fanconi), efeito este, que não é observado com o uso da ciclofosfamida (BURK *et al.*, 1990; GOREN *et al.*, 1989; SKINNER *et al.*,

1993). Provavelmente, a nefrotoxicidade induzida pela ifosfamida seja causada pelo cloroacetaldeído, já que este metabólito substancialmente depleta os estoques intracelulares de glutathione (necessário para evitar a lise celular) e, portanto, pode predispor a um dano celular (LIND *et al.*, 1989; WAGNER, 1994).

Neurotoxicidade também pode ocorrer em 20% dos casos, depois da administração de ifosfamida. Os sintomas são sonolência, desorientação, confusão, alucinações, letargia e, coma também foi reportado. Estes sinais podem ocorrer 2 horas depois da dose em bolus que usualmente dura por 1 a 3 dias (BRADE *et al.*, 1985; ZALUPSKI & BAKER, 1988). O fator causador da neurotoxicidade é provavelmente o metabólito cloroacetaldeído (ZALUPSKI & BAKER, 1988). A neurotoxicidade pode também ser devido a queda pronunciada dos níveis de glutathione hepático. O glutathione e a glutathione transferase são responsáveis pelo metabolismo intracelular e detoxificação de vários metabólitos da ifosfamida (CHASSCAU, 1979), especialmente cloroacetaldeído. A depleção de glutathione pode levar ao fracasso do fígado na detoxificação do cloroacetaldeído, resultando em níveis mais elevados de cloroacetaldeído no sangue, o que pode explicar os sintomas neurotóxicos (LIND *et al.*, 1989; LEE, 1991).

Outros efeitos colaterais da ifosfamida podem ser cardiotoxicidade, baixa mielossupressão com leucopenia e trombocitopenia, alopecia, náuseas e vômitos (BRADE *et al.*, 1985; ZALUPSKI & BAKER, 1988).

1.2. Cistite Hemorrágica

A Cistite Hemorrágica é uma síndrome caracterizada por uma hemorragia difusa e edema nas paredes do endotélio da bexiga. São numerosas as causas potenciais desta hemorragia e edema, tais como: algumas drogas (esteróides anabólicos, agentes antineoplásicos tipo ciclofosfamida e ifosfamida, busulfan, agentes imunes, maleato de metenamina e tiotepa), doenças (carcinomas, amiloidose e artrite reumatóide), viroses (adenovírus, vírus BK, citomegalovírus, vírus do herpes simples, influenza A, vírus JC e papovavírus), toxinas (corantes, inseticidas e turpentina), além de terapia com radiação (DEVRIES & FREIHA, 1990; WEST, 1997).

O diagnóstico clínico da cistite hemorrágica é baseado em sintomas não específicos, como hematúria, disúria, urgência e aumento da frequência urinária. A análise da urina revela células largas com núcleo hiper cromático e grande, com citoplasma disforme e hematúria microscópica (DEVRIES & FREIHA, 1990; WALTHER, 1993). O diagnóstico pode ser confirmado por cistoscopia. O dano urotelial vai desde uma pequena telangiectasia dos vasos da bexiga até uma ulceração difusa e necrótica. Quando severa, a síndrome pode ocasionar constrição da bexiga, anemia, infecções recorrentes do trato urinário, hidronefrose, perfuração da bexiga, insuficiência renal e morte (SENCER *et al.*, 1993).

A bexiga é o órgão final para os efeitos tóxicos de muitas drogas e substâncias químicas excretadas na urina. A concentração e contato prolongado destas substâncias com a mucosa vesical contribuem para os danos agudos e crônicos. Nesta dissertação foram utilizados agentes

alquilantes, como as oxazafosforinas (ciclofosfamida e ifosfamida) (Ver Figura 1), que são as drogas implicadas com maior frequência na ocorrência da cistite hemorrágica. Estas drogas não apresentam ação específica sobre a bexiga, mas são degradadas ou metabolizadas em produtos ativos, sendo a urotoxicidade causada pela ação direta do metabólito tóxico chamado acroleína, que se concentra na bexiga (WEST, 1997; DEVRIES & FREIHA, 1990).

1.2.1. Diagnóstico da Cistite Hemorrágica Induzida por Oxazafosforinas

Achados cistoscópicos podem variar de acordo com a severidade da cistite hemorrágica, indo desde uma discreta telangiectasia dos vasos sanguíneos até uma severa e difusa hiperemia da mucosa com ulceração, hemorragia, necrose focal, áreas hiperplásticas semelhantes a tumor e capacidade reduzida da bexiga (SCHEEF, 1971; RUBIN & RUBIN, 1966). Koss foi o primeiro a reportar mudanças histológicas em bexigas de ratos, que foram expostas a metabólitos da ciclofosfamida (KOSS, 1967). Este autor descreveu evidência de perda epitelial, dilatação capilar, hemorragia na submucosa, fibrose e necrose de músculo liso. Estas mudanças não ocorrem apenas na mucosa da bexiga. Evidência histológica de injúria e de fibrose tem sido encontrado em todas as paredes da bexiga, as quais podem ser responsáveis pela natureza incurável dos para-efeitos severos não hemorrágicos da ciclofosfamida (LEVY & HARRIS, 1977; RUBIN & RUBIN, 1966; CROW, 1977), incluindo a sensação de esvaziamento e irritação, que podem persistir durante

anos ou aparecer depois de uma remissão prolongada (STILLWELL & BENSON, 1988).

Um exame citológico de células esfoliadas da urina de pacientes tratados com ciclofosfamida revelou células largas, com relação núcleo-citoplasma aumentada e núcleo degenerado e hipercromático (FORNI *et al.*, 1964). Estes achados são característicos dos efeitos da ciclofosfamida nas células uroteliais, mas não são específicos, já que mudanças similares podem ser vistas depois de uma cateterização e infecção viral (MURPHY, 1986). Os achados citológicos são semelhantes a citologia de células transicionais de carcinoma de bexiga de alto grau (BENNET, 1974; KOSS, 1979 apud LEVINE & RICHIE, 1989). No entanto, Murphy e Miller demonstraram que as células esfoliadas com núcleo bizarro são raras e, quando presentes, são facilmente diferenciadas de células malignas por observadores experientes (MURPHY, 1986; MURPHY & MILLER, 1984).

Urografia excretora periódica (pielograma venoso) é um exame importante para detectar câncer urotelial, especialmente no trato urinário superior, e para detectar fibrose crônica de bexiga e hidronefrose silenciosa subsequente. Os exames devem ser mais frequentes (quase todo ano) para pacientes que já tiveram cistite hemorrágica, diferente daqueles pacientes que nunca tiveram cistite. Hematúria grave nova, microhematuria, achados citológicos anormais na urina ou a sensação de esvaziamento e irritação requerem urografia excretora. Também, depois de uma cistite hemorrágica, devem ser feitos exames anuais de urina, citologia da urina e cistoscopia (com biopsia se necessário) para otimizar a detecção de malignidades e avaliar a fibrose de bexiga (STILLWELL & BENSON, 1988).

1.2.2. Tratamento da Cistite Hemorrágica

Os métodos para o tratamento da cistite hemorrágica induzida pelas oxazafosforinas incluem: hiperhidratação; constante irrigação da bexiga; esvaziamento frequente, drenagem com cateter e cateterização ureteral. Estas medidas profiláticas são designadas para diminuir a concentração da acroleína que é urotóxica e para diminuir o seu tempo de contato com as paredes da bexiga, assim diminuindo o risco de urotoxicidade (HASELBERGER & SCHWINGHAMMER, 1995; DROLLER *et al.*, 1982; GOLIN & BENSON, 1977; PHILIPS *et al.*, 1961; REYNOLDS *et al.*, 1969). No entanto, as medidas profiláticas podem não ser efetivas. Por exemplo, a ciclofosfamida produz um efeito direto no túbulo renal induzindo a uma retenção inapropriada de água. Assim, a hidratação excessiva pode levar ao risco de uma sobrecarga de fluidos e possivelmente uma hiponatremia, convulsões e até a morte (DeFronzo *et al.*, 1973).

Quando ocorre uma hemorragia maciça, que necessita de transfusão, são usados vários regimes de tratamento através dos quais se obtém sucesso, mas também complicações. Dentre estes regimes incluem-se: fulguração simples dos locais de sangramento (LAPIDES, 1970); instilação com nitrato de prata (PYERITZ *et al.*, 1978; KUMAR *et al.*, 1976), fenol e formalina (SHROM *et al.*, 1976; SUSAN & MARSH, 1975; DUCKETT *et al.*, 1973; FAIR, 1974); pressão hidrostática intravesical (HOLSTEIN *et al.*, 1973); ligação ou embolização das artérias hipogástricas (BERKSON *et al.*, 1973; DUCKETT *et al.*, 1973); administração intravenosa de vasopressina (DROLLER *et al.*, 1982; PYERITZ *et al.*, 1978); administração intravenosa e oral do ácido

aminocapróico (STILLWELL & BENSON, 1988) e desvio do fluxo urinário com cistectomia (BERKSON *et al.*, 1973; GOLIN & BENSON, 1977; ANDERSON *et al.*, 1967; NOE & MCSWAIN, 1983; MARSH *et al.*, 1971; LAPIDES, 1970).

Outras medidas, como a irrigação intravesical com alumínio (sulfato de potássio e alumínio) tem sido considerada como um método de tratamento de cistite hemorrágica. O alumínio é um adstringente e age através da precipitação de proteínas sobre a camada do sangramento. O alumínio apresenta baixa permeabilidade celular, assim sua ação é limitada a superfície celular e aos espaços intersticiais (GOEL *et al.*, 1985; SWINYARD & PATHK, 1980). A absorção sistêmica conseqüentemente é minimizada. Encefalopatia e acidose têm sido reportados em 1 paciente tratado com alumínio intravesical. Assim, é recomendado que os níveis de alumínio sejam monitorados nos pacientes com insuficiência renal quando tratados com alumínio intravesical (KAVOUSSI *et al.*, 1986). Diferentemente da instilação com formalina, o alumínio pode ser usado para constante irrigação da bexiga sem o uso de anestesia e na presença de refluxo vesicoureteral. No entanto, o precipitado de alumínio geralmente entope o cateter e quando a terapia com alumínio fracassa, é necessário retirar da bexiga o precipitado que se adere, antes de iniciar um tratamento subsequente, como a instilação com formalina (LEVINE & RICHIE, 1989).

A instilação com formalina tem sido usada durante muitos anos como tratamento efetivo para cistite hemorrágica intratável. A formalina age pela hidrolização de proteínas e através da coagulação do sangue em tecido superficial, controlando assim a hemorragia na mucosa e submucosa (SHROM *et al.*, 1976). Existe uma variedade de técnicas de instilação de formalina

intravesical baseadas no volume, tempo de contato e concentração usada. A concentração de formalina é o parâmetro mais importante com respeito a efetividade e complicações (GODEC & GLEICH, 1983). A formalina proporciona uma dor significativa e, assim, deve ser administrada com o paciente anestesiado. Antes da administração da formalina, deve ser prevenido o refluxo ureteral (FAIR, 1974; GOTTESMAN & EHRLICH, 1974). Uma solução de 1% de formalina pode ser administrada sem riscos de complicações comumente associadas com a formalina, tais como fibrose, refluxo e hidronefrose. Nesta concentração, no entanto, a formalina tem falhado no controle da hemorragia (McGUIRE *et al.*, 1974). Nenhuma complicação que ameace a vida do paciente tem sido reportada com soluções de 2,5 a 4% de formalina, embora hidronefrose e contratatura da bexiga tenham ocorrido (GODEC & GLEICH, 1983). Soluções de formalina a 10% apresentaram sérias complicações como insuficiência renal quando coexiste o refluxo, necrose papilar, fibrose da bexiga e da uretra, obstrução ureterovesical com hidronefrose ou anúria e extravasamento intraperitoneal fatal (SHROM, 1976; FAIR, 1974; McGUIRE *et al.*, 1974; KALISH *et al.*, 1973).

Também, a administração intravesical de prostaglandina F₂- α e prostaglandina E₂ têm sido reportadas como efetivas na cistite hemorrágica severa induzida por ciclofosfamida em 2 pacientes (SHURAFUFA *et al.*, 1987; MOHIUDDIN *et al.*, 1984). A prostaglandina E₂ tem sido usada para acelerar a cura de úlceras estomacais (EL-GENDI *et al.*, 1982), mas a função das prostaglandinas no trato urinário não está totalmente entendida (UEDA *et al.*, 1985). As prostaglandinas devem mediar a atividade da vasopressina na bexiga (BURCH & HALUSHKA, 1982). Devido ao efeito já reconhecido da

prostaglandina de controlar o sangramento da mucosa do estômago (CHAUDHURY & JACOBSON, 1978), tem sido sugerido que a ciclofosfamida ou seus metabólitos inibem a formação de prostaglandinas, reduzindo seu papel uroprotetor. Trigg e colaboradores (TRIGG *et al.*, 1990) reportaram sobre a eficácia da prostaglandina E1 em 6 pacientes pediátricos com cistite hemorrágica severa durante a preparação para o transplante de medula óssea. Espasmos da bexiga foram os únicos efeitos colaterais que apareceram. Em estudos laboratoriais, a prostaglandina F2- α diminuiu o efeito urotóxico da ciclofosfamida quando administrada de maneira profilática em ratos (GRINGBERG-FUNES *et al.*, 1990).

Outros métodos como o uso de nitrato de prata, fenol, pressão hidrostática intravesical, estrógenos conjugados (LIU *et al.*, 1990), oxigênio hiperbárico, irrigação com gelo e tamponamento vesical (ANDRIOLE *et al.*, 1990) têm sido usados, também, na tentativa de controlar a cistite hemorrágica. Nos pacientes com hemorragia incontrolável, o desvio do fluxo urinário com ou sem cistectomia deve ser indicada como um procedimento para salvar a vida do paciente (EFROS *et al.*, 1994).

Também tem sido reportado que o laser de neodýmium:YAG (Nd:YAG) apresentou-se relativamente seguro e efetivo no tratamento da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida em 3 pacientes pediátricos, podendo livrar o paciente da terapia com formalina ou cistectomia. Entretanto, devem ser feitos testes com um número maior de pacientes para, então, demonstrar a verdadeira eficácia do laser no tratamento da cistite hemorrágica (GWEON & SHANBERG, 1997).

Em experimentos com ratos, demonstrou-se também, que a administração sistêmica do fator de crescimento de queratinócitos (KGF), um fator de crescimento epitelial e urotelial, protege os ratos contra o desenvolvimento de cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. Isto ocorre, provavelmente, pela manutenção da integridade do epitélio da bexiga, através da indução de proliferação das células uroteliais durante e depois da injúria pelas quimiotoxinas (ULICH *et al.*, 1997).

1.2.3. Prevenção da Cistite Hemorrágica

Os métodos para diminuir a toxicidade urotelial de agentes citotóxicos como a ciclofosfamida e a ifosfamida, foram direcionados para o estudo intensivo de agentes intravesicais e orais que detoxificam a acroleína (DECHANT *et al.*, 1991). Os dois agentes mais promissores foram a N-acetilcisteína (Mucomist) e o 2-mercaptoetano-sulfonato de sódio (Mesna). Estes dois agentes apresentam valor profilático, mas não são efetivos quando a cistite hemorrágica já está estabelecida. Muitos investigadores demonstraram em modelos experimentais que a administração oral e intravesical de N-acetilcisteína reduziu substancialmente a ocorrência de cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (PRIMACK, 1971; TOLLEY, 1977; BOTTA *et al.*, 1973). Em estudos similares, as avaliações macroscópica e histológicas demonstraram a ação protetora do Mesna (FREEDMAN *et al.*, 1984; BROCK *et al.*, 1970). No entanto, foi reportado que a N-acetilcisteína diminui os efeitos antineoplásicos da ciclofosfamida (CONNORS, 1966). Tolley reportou que não havia prejuízo dos efeitos antitumorais da ciclofosfamida pela administração intravesical de N-

acetil-cisteína em modelo experimental (TOLLEY, 1977). No entanto, não ocorreu a proteção do trato superior e cateterização foi necessária com administração intravesical de N-acetil-cisteína.

Estes dois agentes agem de maneira similar: ambos apresentam grupamentos sulfidrílicos livres (grupamentos tiólicos) que interagem com o grupamento aldeídico da acroléina para formar um tioéter não-tóxico (BROCK *et al.*, 1981).

1.2.3.1. 2-Mercaptoetano-Sulfonato de Sódio (Mesna)

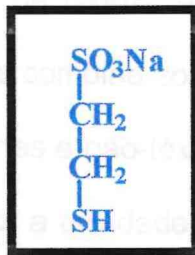


FIGURA 4. Estrutura molecular do mesna (2-mercaptoetano-sulfonato de sódio)

O Mesna (Ver Figura 4) foi usado pela primeira vez nos Estados Unidos em 1984 por Freedman e colaboradores (FREEDMAN *et al.*, 1984). Esta droga já estava sendo usada desde 1981 na Europa para a prevenção de complicações urológicas associadas com a ciclofosfamida e a ifosfamida em mais de 3000 pacientes, que não receberam irrigação constante da bexiga durante o tratamento. Também, o Mesna é excretado rapidamente, com meia-vida de 1,5 horas, e não interfere com as propriedades antineoplásicas da ciclofosfamida (POHL, 1981; SCHEEF *et al.*, 1979). Estudos em animais demonstraram baixa toxicidade clínica com altas doses de Mesna e boa

tolerância em humanos até 60 mg/kg por dia (BRYANT *et al.*, 1980). O Mesna também apresenta um efeito inibitório sobre a liberação espontânea de acroleína derivada da ciclofosfamida hidroxilada na urina (EHRLICH *et al.*, 1984). Ainda mais, Sidau e Shaw mostraram que o Mesna aumenta a excreção renal de cisteína, e assim aumenta a quantidade de grupamentos sulfidrílicos disponíveis na urina para reagir com o grupamento aldeídico da acroleína (SIDAU & SHAW, 1984).

Depois da administração oral ou intravenosa, o Mesna entra na corrente sanguínea e é imediatamente oxidado para a sua forma dimérica e inerte, dimesna (ditiodietanosulfonato). Nos rins, as enzimas tiotransferase e glutation redutase são capazes de reduzir dimesna para mesna, a forma ativa deste composto, que então se combina com a acroleína e com a 4-hidroxi-ifosfamida, formando produtos inertes e não-tóxicos (Ver Figura 5). Devido a sua ação ser restrita ao trato urinário, a atividade sistêmica e a toxicidade não-urológica da ifosfamida não são afetadas pelo mesna. A alta solubilidade do mesna e do dimesna facilita o seu rápido clearance do plasma para os rins. Isto é refletido na sua meia-vida plasmática curta (aproximadamente 1,5 horas) quando comparada com a meia-vida da ifosfamida (tipicamente entre 6-7 horas) (SAROSY, 1989; BROCK *et al.*, 1981; SHAW & GRAHAM, 1987). Deste modo é necessário a administração repetida do mesna para proporcionar proteção profilática adequada e contínua à bexiga. Por estas razões o mesna é mais comumente usado como uma infusão contínua ou em administração em bolus repetidas: imediatamente antes da administração da ciclofosfamida ou ifosfamida e 4 e 8 horas depois (KATZ *et al.*, 1995).

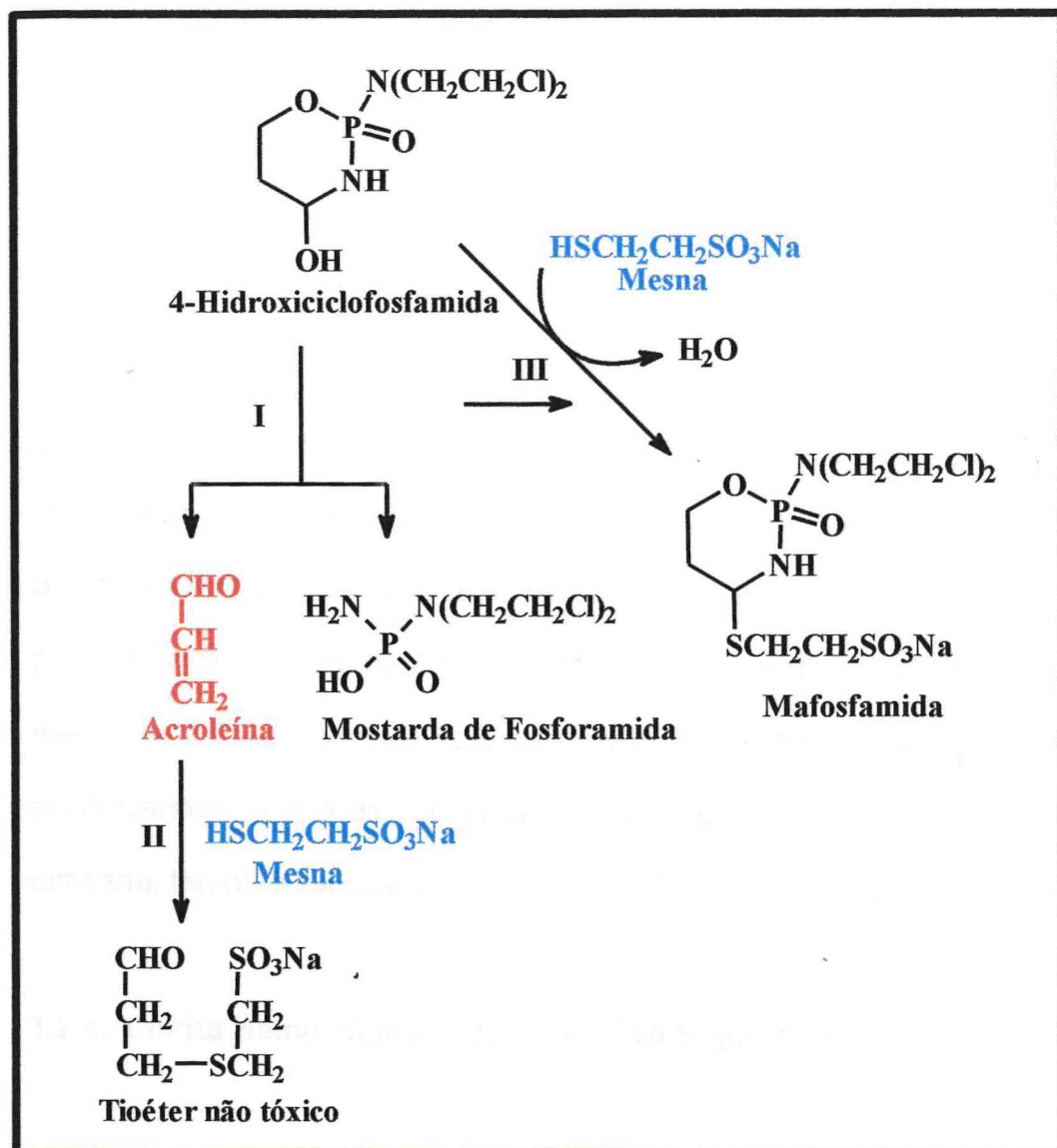


FIGURA 5. Representação esquemática da quebra espontânea da 4-Hidroxíciclofosfamida (I) para formar a acroleína e a mostarda de fosforamida, seguido da detoxificação da acroleína pela reação química com o mesna (II) para formar um tioéter relativamente não-tóxico. A reação direta da 4-Hidroxíciclofosfamida com o mesna (III) também é mostrada. O produto desta reação é um agente anti-câncer (mafosfamida; ASTA Z7557)

Recentemente, com a introdução do mesna para uso oral tem sido recomendada uma dose inicial endovenosa (20% da dose de ciclofosfamida ou ifosfamida) seguida de doses orais 2 e 6 horas após o término da infusão de

ciclofosfamida ou ifosfamida (40% da dose de ciclofosfamida ou ifosfamida) (GOREN *et al.*, 1997).

Goren e colaboradores demonstraram um modelo alternativo no qual o mesna plasmático está em equilíbrio com o dimesna. O fígado recicla o dimesna para mesna, mas não inativa ou extrai mesna e dimesna para excreção pela bile. A redução de dimesna no fígado é dependente de glutathione. O dimesna também pode ser reduzido no plasma pela reação com tiols endógenos. A proporção substancial de mesna urinário requerido para reverter a cistite hemorrágica pode ser derivada da filtração glomerular do mesna plasmático do que derivada da redução de dimesna pelos túbulos renais. Este estudo também demonstrou a bioequivalência das formulações de mesna oral e intravenoso, e que as concentrações de mesna são maiores do que as de dimesna, tanto no sangue quanto na urina (GOREN *et al.*, 1998 a e b).

1.2.4. Cistite Hemorrágica como uma Patologia Inflamatória

Até bem pouco tempo atrás, quando se abordava o tema cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, as referências relacionadas a sua patogênese mencionavam o metabólito urinário acroleína, como sendo o desencadeador de toda a cascata de eventos que culminavam com a lesão urotelial e a hemorragia (COX, 1979; HIGGS *et al.*, 1989; LEVINE & RICHIE, 1989; KOLB *et al.*, 1994; MARKMAN *et al.*, 1996; FLEMING *et al.*, 1996; CROCITTO *et al.*, 1996).

O Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA), do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina da

Universidade Federal do Ceará tem se dedicado nos últimos anos ao estudo dos mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da cistite hemorrágica experimental induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. Neste sentido, já foi demonstrado que citocinas como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) e Interleucina-1 (IL-1) são mediadores cruciais envolvidos nos eventos inflamatórios, assim como no dano urotelial e na hemorragia presentes na cistite hemorrágica (GOMES *et al.*, 1995).

Uma contribuição importante também dos pesquisadores do LAFICA na compreensão da patogênese da cistite hemorrágica foi a demonstração de que o óxido nítrico (NO) parece ser o mediador final dos danos uroteliais e da hemorragia da cistite hemorrágica. A constatação baseou-se no fato de que: (i) inibidores da óxido nítrico sintase, tipo Éster Metil L-N^G-Nitroarginina (L-NAME) e L-N^G-Nitroarginina (L-NOARG), bloquearam os eventos inflamatórios e a lesão urotelial da cistite hemorrágica, sendo este efeito revertido por L-arginina mas não por seu isômero inativo D-arginina; (ii) a histoquímica para NADPH (Fosfato de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo, na sua forma reduzida)-diaporase mostrou células contendo a enzima NO sintase (NOS) no urotélio de ratos controles; tal marcação desaparece após a indução da cistite, devido a descamação urotelial, porém surgem células positivas, mais parecidas com células inflamatórias, na lâmina própria da mucosa inflamada; (iii) a atividade da NOS constitutiva decai após a indução da cistite hemorrágica, ao mesmo tempo em que detecta-se a atividade para NOS induzida na lâmina própria e, finalmente (iv) o pré-tratamento de ratos com o antagonista do fator de ativação plaquetária (PAF), BN52021, além de inibir os eventos inflamatórios clássicos da cistite, diminui a atividade da NOS induzida (SOUZA-FILHO *et al.*, 1997).

Também foi demonstrado pelo LAFICA, que a administração do soro anti-TNF- α diminuiu de maneira significativa o edema vesical induzido por ciclofosfamida, como também o aumento da atividade da NOS induzida (RIBEIRO *et al.*, 1998).

Portanto, estes resultados descritos acima, sugerem que o NO endógeno está envolvido no dano urotelial e nos eventos inflamatórios que levam à cistite hemorrágica depois da administração de ciclofosfamida. A indução da NOS na bexiga inflamada parece requerer a ação do TNF- α e do PAF.

Recentemente, foi demonstrado também por pesquisadores do LAFICA, o importante papel dos neutrófilos na patogênese da cistite hemorrágica (ASSREUY *et al.*, 1999). Este estudo mostrou que lectinas de plantas com afinidade específica de ligação por resíduos de glicose-manose reduziram o dano urotelial e os eventos inflamatórios presentes na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, provavelmente pelo bloqueio da migração de neutrófilos para as bexigas inflamadas.

1.3. Drogas Antiinflamatórias Utilizadas na Tentativa de Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida e Ifosfamida

1.3.1. Dexametasona

A dexametasona é um glicocorticóide sintético, análogo da hidrocortisona, que apresenta ações antiinflamatórias, imunossupressoras e analgésicas (RANG *et al.*, 1997). Os glicocorticóides são amplamente usados

para a supressão da inflamação em doenças inflamatórias crônicas tais como a asma, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal e doenças autoimunes, todas elas associadas com o aumento da expressão de genes inflamatórios (BARNES, 1998).

Os glicocorticóides são potentes inibidores de praticamente todo o tipo de reação inflamatória e exercem um forte efeito no recrutamento de leucócitos. A dexametasona é rotineiramente usada para modulação negativa da migração celular nos sítios da inflamação, e esta ação é realizada em parte, pelo seu potente efeito inibitório da síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (SCHLEIMER, 1990), como também pelo seu efeito de redução da resposta leucocitária (MANCUSO *et al.*, 1995).

O mecanismo preciso da ação dos glicocorticóides não está totalmente elucidado, mas muitos mecanismos parecem estar envolvidos na supressão da inflamação (FORSYTH & TALBOT, 1992). Os glicocorticóides parecem exercer seu efeito pela indução da síntese de lipocortinas, que são proteínas dependentes de cálcio, as quais inibem a fosfolipase A₂, reduzindo assim, a produção de ácido aracdônico e de eicosanóides. Para isto, os glicocorticóides se ligam a receptores de glicocorticóides no citoplasma que, então, dimerizam e translocam-se para o núcleo. No núcleo, ligam-se à elementos da resposta dos glicocorticóides presentes nos genes responsivos aos glicocorticóides, resultando num aumento da transcrição. Assim, os glicocorticóides podem aumentar a transcrição de genes que codificam proteínas antiinflamatórias, incluindo lipocortina-1, interleucina-10, antagonista do receptor para interleucina-1 e endopepdases (GOULDING *et al.*, 1990; CIRINO & FLOWER, 1987).

A indução de hiperalgesia na pata de rato pela IL-1 pode ser bloqueada pelo tratamento dos animais com dexametasona ou com lipocortina -1. Esta inibição é abolida pelo pré-tratamento do animais com anticorpos anti-lipocortina-1. A dexametasona e a lipocortina-1 também inibem a liberação de PGE_2 pelos macrófagos *in vitro* (FERREIRA *et al.*, 1997). Estas observações sugerem que as ações analgésicas dos glicocorticóides sejam mediadas pela lipocortina-1, resultando, pelo menos em parte, da inibição da liberação de prostaglandina, possivelmente através do bloqueio da indução da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) (MITCHELL *et al.*, 1994). Semelhantemente, a potenciação do efeito hiperalgésico da IL-1 pelo ácido aracdônico é abolida pela dexametasona como também pela lipocortina-1. Os glicocorticóides parecem reduzir a expressão das ciclooxigenases, reduzindo assim a quantidade necessária para produzir as prostaglandinas. Os glicocorticóides parecem inibir a expressão de COX-2, que parece ser a enzima mais envolvida nos efeitos inflamatórios dos eicosanóides. Eles apresentem menos efeitos na expressão de ciclooxigenase-1 (COX-1) (GOLDFIEN, 1995).

Mas estas não são as únicas ações antiinflamatórias dos glicocorticóides. O efeito mais impressionante dos glicocorticóides é a inibição da expressão de múltiplos genes inflamatórios (genes para citocinas, enzimas, receptores e moléculas de adesão). Estas ações não podem ser devido a interação direta entre os receptores de glicocorticóides e os elementos da resposta dos glicocorticóides presentes no citoplasma, já que estes sítios de ligação estão ausentes nas regiões promotoras da maioria dos genes inflamatórios. Parece mais correto que esta ação seja devido a interação inibitória direta entre os receptores de glicocorticóides ativados e fatores de transcrição ativados, tais

como o fator nuclear-kappa B (NF- κ B) e o fator ativador da proteína-1 (AP-1), que regulam a expressão de genes inflamatórios (BARNES, 1998).

O NF- κ B pode ser um grande alvo para o efeito imunossupressor e antiinflamatório dos glicocorticóides. O NF- κ B tem um importante papel na indução de um grande número de importantes genes imunoregulatórios, incluindo os que codificam a IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, TNF- α , interferon γ , fator estimulador de colônias de granulócito-macrófagos e moléculas de adesão. Muitos destes genes também são regulados pelo AP-1 (AUPHAN *et al.*, 1995). A dexametasona induz a transcrição do gene para I κ B α , que resulta no aumento da síntese da proteína inibitória I κ B α , que se associa com o NF- κ B, reduzindo marcadamente a quantidade de NF- κ B translocado para o núcleo. Esta diminuição da ativação do NF- κ B, reduz a secreção de citocinas e assim bloqueia a ativação do sistema imune (SCHEINMAN *et al.*, 1995).

Foi recentemente reportado que algumas das ações antiinflamatórias dos glicocorticóides ocorrem pela inibição da indução da enzima óxido nítrico sintase (NO sintase). No edema de pata induzido por carragenina em rato, os inibidores da NO sintase como o L-NMMA e o L-NAME inibem a resposta, tendo seu efeito revertido pela L-Arginina. A L-Arginina sozinha aumenta as fases tardias do edema no grupo controle, mas não nos ratos tratados com dexametasona, sugerindo que a indução da NO sintase é inibida pelo glicocorticóide (IALENTI *et al.*, 1992).

1.3.2. Indometacina

A indometacina apresenta propriedades antiinflamatórias e analgésicas/antipiréticas proeminentes, semelhantes àquelas dos salicilatos. Os efeitos antiinflamatórios da indometacina são evidentes em pacientes com artrite reumatóide e outros tipos de artrites, incluindo gota aguda. Mesmo a indometacina sendo mais potente que a aspirina, as doses de indometacina que são toleradas pelos pacientes com artrite reumatóide usualmente não produzem efeitos superiores àqueles produzidos pelos salicilatos. A indometacina apresenta propriedades analgésicas distintas dos efeitos antiinflamatórios, e já foram observadas evidências para ações centrais e periféricas, e também propriedades antipiréticas. A indometacina é um potente inibidor das ciclooxigenases, enzimas responsáveis pela formação das prostaglandinas; inibindo também a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares. Como muitas outras drogas antiinflamatórias não-esteroidais (DAINES), a indometacina impede a fosforilação oxidativa em concentrações supratrapêuticas e inibe a biossíntese de mucopolissacarídeos (RAINSFORD, 1985; HUSKISSON, 1983).

Devido a alta incidência e severidade dos seus efeitos colaterais associados ao tempo prolongado de administração, a indometacina não é comumente usada como analgésico e antipirético. Entretanto, esta droga provou ser útil com antipirético na Doença de Hodgkin, quando a febre é refratária para outros agentes. A indometacina é freqüentemente mais efetiva que a aspirina no tratamento da espondilite anquilosante e na osteoartrose.

Também, a indometacina é efetiva no tratamento da gota aguda, embora não seja uricosúrica (RAINSFORD, 1985; HUSKISSON, 1983).

Um percentual alto (35 a 50%) de pacientes que recebem doses terapêuticas usuais de indometacina apresentam sintomas inconvenientes, e 20% dos pacientes descontinuam seu uso. A maioria dos efeitos adversos são relacionados com a dose. As complicações gastrointestinais consistem de anorexia, náuseas e dores abdominais. Tem sido reportado a ocorrência de uma única ulcera ou ulcerações múltiplas de todo o trato gastrointestinal superior, algumas vezes com perfuração e hemorragia. Pancreatite aguda também tem sido reportada e o efeito mais freqüente no Sistema Nervoso Central (SNC) é dor de cabeça frontal que ocorre em 25 a 50% dos pacientes que tenham feito uso de indometacina por longos períodos. Tontura, vertigem e confusão mental também são freqüentes, dentre outros. Reações hematopoiéticas incluem neutropenia, trombocitopenia, e raramente, anemia aplástica. A função plaquetária também é diminuída pela indometacina. A indometacina é contra-indicada em indivíduos com doenças renais ou lesões ulcerativas do estômago e do intestino (INSEL, 1996).

1.3.3. Meloxicam

Até recentemente, tinha sido amplamente aceito que um mecanismo comum de inibição da enzima ciclooxigenase (COX) era responsável pelos efeitos terapêuticos e adversos das drogas antiinflamatórias não-esteroidais (DAINES). Entretanto, esta teoria foi reformulada desde a descoberta da isoenzima COX induzida, COX-2 (FU *et al.*, 1990; FLETCHER *et al.*, 1992).

Também foi demonstrado que a inibição da COX-2 era relevante para os efeitos antiinflamatórios das DAINES, enquanto que a inibição da enzima COX-1 constitutiva era responsável pelos efeitos gástricos e renais indesejados, como também pela atividade antitrombótica destes agentes (VANE, 1994).

O meloxicam (Boehringer Ingelheim) é um exemplo de substância produzida através do desenvolvimento de drogas, as quais foram formuladas com a evolução do conceito de COX. Esta droga foi inicialmente caracterizada *in vivo* em modelos animais, antes da existência do conhecimento da COX-2, e apresenta uma potente atividade antiinflamatória e analgésica em todos os modelos de inflamação. Uma comparação entre a dose ulcerogênica e a dose antiinflamatória do meloxicam em modelos de ratos com artrite, indicaram uma margem terapêutica superior do meloxicam em comparação com os DAINES padrão (ENGELHARDT *et al.*, 1995 a e b; ENGELHARDT *et al.*, 1996). A inibição preferencial do meloxicam pela enzima COX-2 em relação a COX-1 foi demonstrada mais tarde e parece está relacionada com uma melhora das ações farmacológicas deste composto (PAIRET *et al.*, 1996; PAIRET *et al.*, 1996 apud PAIRET *et al.*, 1999). O uso de meloxicam tem sido iniciado em muitos países para o tratamento da osteoartrite e artrite reumatóide.

O meloxicam apesar de não ser completamente desprovido de efeitos colaterais gastrointestinais, apresenta uma melhor tolerância gastrointestinal do que as DAINES não-seletivas para COX-2, ambas com doses efetivas e equivalentes. Testes clínicos com o meloxicam sugeriram atividade antiinflamatória similar a outros DAINES, mas com uma melhor tolerância gastrointestinal e renal (PAIRET *et al.*, 1999).

1.3.4. Produtos Naturais

1.3.4.1. *Myracrodruon urundeuva* FR. ALL.

A *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) é uma árvore arbórea encontrada no Brasil, principalmente na vegetação da zona semi-árida do Nordeste, nas matas secas e subúmidas, mas comumente nas encostas de serras. É popularmente conhecida no Brasil como Aroeira do Sertão (VIANA *et al.*, 1994).

Na medicina popular do Nordeste do Brasil, a casca do tronco desta árvore desprovida de súber, ou seja, a entrecasca, é um dos remédios vegetais de uso ginecológico mais frequente e mais antigo. Há referência quanto ao uso desta planta também no tratamento, por via oral, de doenças do aparelho respiratório, do aparelho urinário, nas hemoptises, metrorragias e diarreias, sob a forma de infuso ou decocto. Entretanto, a grande frequência de seu emprego que alcança quase a totalidade das mulheres nordestinas está na prática caseira do “banho de assento” como forma de tratamento ginecológico e pós-parto. Seu uso é registrado ainda no tratamento de ferimentos da pele, usando-se o decocto, concomitantemente, por via oral e por via tópica. Além do emprego medicinal relatado, existem estudos etnobotânicos que citam o uso da casca na indústria de cortumes, por seu elevado teor de taninos, e citam ainda o uso da madeira na construção civil, vigamentos, dormentes etc, referindo-se ainda a sua imputrecibilidade em contato com o solo e com a água, além de grande resistência ao esmagamento (VIANA *et al.*, 1994).

Estudos (MENEZES, 1986) mostraram propriedades antiinflamatórias, cicatrizantes e antiulcerogênicas dos extratos aquosos como também dos extratos hidroalcoólicos, em diversos modelos experimentais. O elixir preparado da casca foi também usado com sucesso em estudos clínicos preliminares contra úlcera péptica em humanos (VIANA *et al.*, 1995).

Testes farmacológicos monitorados para detectar atividade antiinflamatória dos extratos hexânicos, clorofórmicos, acetato de etílas, álcool metílicos e aquosos, demonstraram que o extrato de acetato de etila foi o mais ativo deles. Estudos químicos (BANDEIRA, 1993) revelaram que o extrato de acetato de etila apresentou duas frações principais. A primeira apresentou predominância de substâncias de natureza chalconas diméricas e a segunda fração apresentou predominância de taninos catéquicos.

Estudos recentes demonstraram que a fração de taninos (FT) do extrato de acetato de etila de *Myracrodruon urundeuva*, foi usado em diversos modelos experimentais e apresentou efeitos antinoceptivos como também efeitos antiinflamatórios. No teste de contorções abdominais, nas doses de 0,1 e 1 mg/kg *ip*, a FT causou inibições de 39,6% e 80,8%, respectivamente, e no teste de formalina em camundongos causou inibições de 47,8% e 77,2% (fase 1) e 59,2% e 100% (fase 2), depois da administração de 5 e 10 mg/kg, via intra-peritoneal (*ip*). O efeito anti-nociceptivo foi parcialmente revertido pela noloxonã. A FT apresentou também um efeito antiedematogênico no edema da pata de rato induzida por carragenina como também por dextrana. No modelo da carragenina, inibições significativas foram vistas depois da administração de 5 e 10 mg/kg, *ip*. No edema induzido por dextrana, a FT [10 mg/kg, via oral (*vo*)] causou inibições de 29,2%, 42,4% e 54,5% as 2h, 3h e 4h,

respectivamente. A FT (10 e 25 mg/kg, *ip*) inibiu significativamente os eventos inflamatórios (edema vesical e aumento de permeabilidade vascular) que ocorre no modelo de cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. Depois da administração subcutânea e oral, a FT (5-50 mg/kg) também bloqueou a migração de neutrófilos induzidas diretamente pelo N-formil-metionil-L-leucil-L-fenilalanina (fMLP) como também pelas induzidas indiretamente pela carragenina (VIANA *et al.*, 1997).

1.3.4.2. *Ageratum conyzoides* L.

O *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae), é uma planta conhecida no Brasil como Mentrasto ou Erva de São João. É uma erva anual aromática, erecta, muito comum nas serras úmidas de todo o Nordeste (MATOS, 1994), e é usada na medicina popular por suas propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antidiarréicas (CORREIA, 1926). Em alguns países africanos, o *Ageratum conyzoides* é usado como droga antienterálgica e antipirética (KERHARO & ADAM, 1974 apud VIANA *et al.*, 1998).

Estudos demonstraram que o extrato de suas folhas foi efetivo no tratamento de dor crônica em pacientes com osteoartrite (MARQUES *et al.*, 1988). Abena e colaboradores (ABENA *et al.*, 1993) demonstraram a sua eficácia em causar uma queda na temperatura retal em ratos e uma redução na atividade motora espontânea. Foi demonstrado que o óleo essencial de *Ageratum conyzoides* apresenta propriedades antiinflamatórias (ABENA *et al.*, 1996). Foi demonstrado, também, que a fração solúvel em água obtida do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* é um potente e não-

específico bloqueador das contrações de músculos lisos, possuindo também atividade miorreloxante *per si* (SILVA & VALE, 1991).

Também, foi demonstrado recentemente, que uma fração solúvel em água (FSA) do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides*, apresentou atividade antiinflamatória e analgésica (MAGALHÃES *et al.*, 1997), como mostrado pelo tratamento com a FSA (20-50 mg/kg; *ip*) que reduziu a incapacitação articular induzida por carragenina (300 µg) em ratos. Neste modelo, a naloxona (2 mg/kg) bloqueou a atividade analgésica da morfina (2 mg/kg) mas não mudou o efeito antinociceptivo da FSA. Isto sugere que os opióides endógenos não estão envolvidos no efeito antinociceptivo da FSA. A migração de neutrófilos induzida pela injeção de carragenina (300 µg) na cavidade peritoneal de ratos e na bolsa de ar subcutânea de 6 dias, foi significativamente inibida ($p < 0,05$) pelo pré-tratamento com a FSA [30 e 50 mg/kg; via sub-cutânea (sc)]. Na mesma dose, a FSA também inibiu o edema de pata induzido por carragenina (400 µg/pata), mas não modificou o edema induzido por dextrana (100 µg/pata). Além disso, o aumento da permeabilidade vascular cutânea induzida por leucotrieno B₄ (LTB₄) foi significativamente bloqueado pela FSA (30 mg/kg; *ip*). Entretanto, na mesma dose a FSA causou um aumento de 2 vezes na permeabilidade vascular induzida por histamina (10 µg), que é um mediador vasoativo direto. Estes resultados sugerem que a FSA contém atividade analgésica periférica e uma atividade anti-inflamatória que parece ocorrer apenas nos eventos inflamatórios dependentes de leucócitos.

Estas atividades anti-inflamatórias e analgésicas parecem ocorrer pela inibição da enzima ciclooxigenase, como foi demonstrado quando se investigou os efeitos do *Ageratum conyzoides* nas respostas nociceptivas e inflamatórias

induzidas por zymosan, utilizando-se quatro modelos experimentais de inflamação. No modelo de incapacitação articular, a fração solúvel em água (FSA) do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* promoveu uma diminuição significativa do tempo de elevação da pata na doses de 30 e 50 mg/kg *ip*; no modelo de contorções abdominais, a FSA foi capaz de inibir a respostas às contorções abdominais induzidas por zymosan e ácido acético; no modelo de migração de neutrófilos para cavidade peritoneal, a FSA provavelmente agiu na prevenção da sensibilização do nociceptor pelo bloqueio da geração de produtos de ciclooxigenase como fazem as DAINES; e no modelo de edema de pata, o FSA não promoveu nenhum efeito no edema induzido por zymosan e dextrana, reforçando a hipótese de que o extrato de *Ageratum conyzoides* poderia agir como um inibidor de ciclooxigenase (VIANA *et al.*, 1998).

1.3.4.3. Ternatina – Flavonóide Isolado de *Egletes Viscosa* Less.

A *Egletes viscosa* Less. (Compositae) é uma pequena erva silvestre, amarga, aromática, conhecida popularmente no Brasil como Macela, e que cresce abundantemente no Nordeste do Brasil. Infusões feitas dos capítulos florais de *Egletes viscosa* são comumente empregados na medicina popular para o tratamento de dispepsia, cólicas intestinais e também como antiemético (BRAGA, 1953).

Recentemente a ternatina (5,4'- dihidroxi- 3,7,8,3' - tetrametoxiflavona) foi isolada (LIMA *et al.*, 1996) e estudada para testar-se a sua atividade farmacológica. Assim, a ternatina demonstrou propriedades antiinflamatórias,

antianafiláticas, antitrombóticas e hepatoprotetoras em diversos modelos animais (SOUZA *et al.*, 1992; SOUZA *et al.*, 1994; RAO *et al.*, 1994).

No modelo de granuloma inflamatório formado por "pellet" de algodão, a ternatina nas doses de 25 e 50 mg/kg, diariamente por um período de sete dias, promoveu uma significativa redução tanto do peso úmido como do peso seco dos granulomas, sugerindo que esse composto inibe a formação do granuloma, provavelmente, interferindo com o metabolismo do ácido araquidônico, agindo tanto na fase exsudativa como na proliferativa. Em modelo experimental agudo de úlcera gástrica induzida por "estresse", álcool e isquemia/reperfusão, a ternatina demonstrou um efeito antiúlcera (SOUZA, 1998).

A ternatina (12,5, 25 e 50 mg/kg, *ip*) foi testada para sua eficácia na modulação da anafilaxia cutânea passiva (PCA) soro homóloga em camundongos e na pleurite em ratos induzida por carragenina, causando uma inibição dose-dependente da PCA homóloga de 1,5 h e de 48 h mediadas pelos anticorpos das classes IgG e IgE, respectivamente, em camundongos de 2 meses de idade. A atividade inibitória da ternatina foi mais pronunciada sobre a reação de PCA mediada pela IgE (47-79%) do que sobre a reação de PCA mediada pela IgG (45-59%). No teste de pleurite em ratos de 5-6 meses induzida por carragenina, a ternatina reduziu a resposta da carragenina em 5 horas tanto pela diminuição do volume do exudato pleural (33-40%) como na diminuição do número de leucócitos (60%). De maneira contrária, a indometacina, um conhecido inibidor de ciclooxigenase, mostrou grande potência na inibição do volume do exudato (57%) e no número de leucócitos (77%). Estes resultados mostraram que a ternatina apresenta propriedades

anti-inflamatórias e anti-anafiláticas, e sugerem que esta substância pode ser uma alternativa útil às drogas anti-alérgicas de cromoglicato de disódio, droga usada na asma brônquica (SOUZA *et al.*, 1992).

Também, a ternatina (30 mg/kg, *ip*, por dia, durante 5 dias consecutivos) causou uma inibição marcante das enzimas séricas induzidas por tetracloreto de carbono (CCl₄) e, também reduziu significativamente a severidade das alterações histopatológicas no tecido hepático. Estas observações sugerem que a ternatina possui atividade anti-hepatotóxica, provavelmente devido a sua capacidade de inibir a formação do radical triclorometila, o que impede a reação em cadeia do processo peroxidativo de membrana (RAO *et al.*, 1994).

Também já foi demonstrado que o pré-tratamento de ratos com a ternatina (25 e 50 mg/kg, *ip*) produziu uma inibição significativa das lesões gástricas induzidas por etanol mas não aquelas induzidas por estresse controlado ou indometacina, sugerindo o provável envolvimento de um mecanismo gastroprotetor independente de prostaglandinas. Com doses similares, tanto o trânsito intestinal como a acumulação de flúidos intestinais induzidas por óleo castor em camundongos, foi significativamente inibido pela ternatina. Ainda mais, a ternatina antagoniza as respostas contráteis evocadas por diferentes agonistas, no íleo de cobaia *in vitro*, e o seu potencial inibitório para drogas pode ser colocado na seguinte ordem: acetilcolina>histamina>serotonina>cloreto de bário. Todos estes resultados demonstram um possível efeito antidiarréico da ternatina, já que, a inibição da motilidade e secreção intestinal podem controlar a diarréia clínica (RAO *et al.*, 1997).

1.4. Justificativa e Objetivos

A quimioterapia de tumores malignos com as oxazafosforinas tais como ciclofosfamida e ifosfamida é geralmente limitada pela ocorrência de urotoxicidade. Tem sido relatado que a ifosfamida produz cistite hemorrágica mais comumente que a ciclofosfamida, sendo mais intensa e refratária (HIGGS *et al.*, 1989). Na ausência de adequada uroproteção, a cistite hemorrágica torna-se dose limitante, com incidência média de 40%. Tal toxicidade é atribuída a excreção renal da acroleína, um metabólito urotóxico da ciclofosfamida e da ifosfamida (COX, 1979; HIGGS *et al.*, 1989; KATZ *et al.*, 1995). Tem sido proposto que o dano urotelial ocorra pelo contato direto com a acroleína, causando edema, ulceração, neovascularização, hemorragia e necrose (COX, 1979).

Muitos trabalhos tem sido feitos na tentativa de limitar a toxicidade da bexiga com eliminação da hemorragia, mas todos sem muito sucesso. Como por exemplo, a irrigação com prostaglandina ou alumínio, e a instilação com formalina (MOHIUDDIN *et al.*, 1984; SHURAF A *et al.*, 1987; KAVOUSSI *et al.*, 1986; LEVINE & RICHIE, 1989). O uso de mesna mostrou eficácia na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. O mesna (2-mercaptoetanosulfonato de sódio), um composto tiólico, entrou para os testes clínicos como um agente uroprotetor desde 1970, tornando-se a droga de escolha para este propósito em um curto período de tempo (KATZ *et al.*, 1995). Esta droga contém um grupamento sulfidrílico, que se liga a acroleína dentro da bexiga, destituindo-a de sua atividade urotóxica. O tioéster resultante passa inócuo pela urina e não causa nenhum dano ao uroepitélio

(BROCK & POHL, 1983). Assim o mesna é indicado para prevenir a ocorrência da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. Entretanto, alguns trabalhos recentes têm descrito que o uso de mesna nem sempre previne a cistite hemorrágica provocada pela ifosfamida, havendo uma certa refratariedade em um percentual relativamente importante de pacientes, os quais tem apresentado cistite em graus variados de intensidade mesmo na vigência do mesna. Experimentalmente, em ratos, os pesquisadores do LAFICA têm verificado que isto de fato ocorre em cerca de 30% dos animais, como também uma certa variação na intensidade da cistite observada (SHEPHERD *et al.*, 1991; ETLIK *et al.*, 1997; RATLIFF & WILLIANS, 1998; WALKER, 1999). Assim, um método que pudesse prevenir o dano vesical e subsequente hemorragia nestes pacientes seria de grande utilidade terapêutica.

Nestes últimos anos, o Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA), do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, tem se dedicado ao estudo dos mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da cistite hemorrágica experimental induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. Os pesquisadores do LAFICA demonstraram que citocinas como TNF- α e IL-1 são mediadores cruciais envolvidos nestes eventos inflamatórios e também no dano urotelial e hemorragia (GOMES *et al.*, 1995). Uma contribuição importante neste assunto realizado pelo grupo do LAFICA foi a recente demonstração de que o óxido nítrico (NO) parece ser o mediador final do dano urotelial e hemorragia na cistite (SOUZA-FILHO *et al.*, 1997). Também os pesquisadores do LAFICA mostraram que a administração do soro anti-TNF- α diminuiu

significativamente o edema vesical induzido por ciclofosfamida como também o aumento da atividade da NOS induzida. A indução da NOS na bexiga inflamada parece requerer a ação do TNF- α e do PAF (RIBEIRO *et al.*, 1998).

Considerando que os glicocorticóides são potentes inibidores da síntese de citocinas como TNF- α (BEUTLER *et al.*, 1986) e IL-1 (BOCHNER *et al.*, 1987), de PAF (FLOWER & BLACKWELL, 1979), da geração de NO via inibição da expressão da enzima NOS induzida (SZABO, 1998) e que estes são os mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida, como foi demonstrado pelos pesquisadores do LAFICA, os objetivos geral e específicos desta dissertação de mestrado foram:

Objetivo Geral:

Estudo experimental de alternativas terapêuticas na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida com drogas antiinflamatórias.

Objetivos Específicos:

- Investigar o uso da dexametasona na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida e assim propor uma alternativa terapêutica de menor custo quando comparada com o uso clássico do mesna.

- Investigar outras drogas antiinflamatórias, como os inibidores de ciclooxigenase (COX), um mais seletivo para COX-1 como a indometacina e um mais seletivo para COX-2 como o meloxicam, como alternativas terapêuticas ao uso do mesna, na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida.

- Investigar o uso de Produtos Naturais com atividade antiinflamatória comprovada cientificamente, como o extrato hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão), como a fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) e a ternatina (flavonóide isolado do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less, Macela), como alternativas terapêuticas ao mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus*) machos, com massa corpórea entre 150 e 200 gramas, precedentes do Biotério Central do Campus do Pici – UFC e transferidos para o Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (Faculdade de Medicina – UFC).

Todos os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas, em número de 6 em cada uma delas, recebendo ração comercial balanceada e água à vontade, e permaneceram nas mesmas condições ambientais durante os experimentos.

2.2. Aparelhos e Instrumentos Laboratoriais

- Agitador magnético Thermolyne, mod. M37510/26 (DBARNSTEAD);
- Algodão (CREMER®);
- Alicata para deslocamento cervical;
- Balança para pesagem de animais, mod. ID-1500 (FILIZOLA);
- Balança analítica, mod. AL200 e Ohaus, mod. AS 260D (MARTE);
- Base emborrachada para permanência do animal;
- Bastão de vidro;
- Béqueres (SIMAX);
- Cadinho e pistilo de porcelana;
- Geladeira e freezer (-20°C).
- Lâminas e lamínulas para microscopia;

- Luvas descartáveis;
- Material cirúrgico (pinças, bisturis, tesouras, agulhas, etc.);
- Microscópio óptico binocular (EMBRAEME);
- Micrótomo modelo 820 SPENCER – American Optical Corporation;
- Seringas de 1, 5 e 10 mL e agulhas 29G e 25G (BENSON – DIKSON);
- Tubos plásticos de 15 e 50 mL (FALCON);

2.3. Drogas, Soluções, Líquidos e Corantes Utilizados

- Ciclofosfamida (GENUXAL[®], 200 mg; Asta Médica, AG Frankfurt, Alemanha): dissolvida em solução salina 0,9%;
- Dexametasona (DECADRON[®] 1 mg/mL – Prodome Química & Farmacêutica Ltda., São Paulo, SP, Brasil): diluída em solução salina 0,9%;
- Dexametasona (DECADRON[®] 0,75 e 4 mg - Prodrome Química & Farmacêutica Ltda., São Paulo, SP, Brasil): comprimido diluído em solução salina 0,9%.
- Extrato hidroalcoólico (20% de álcool) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira do Sertão) que após evaporação do álcool apresentou uma concentração de 115,9 mg/mL, e foi obtido do Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará: diluído em solução salina 0,9%;
- Fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) na concentração de 169,75 mg/mL, obtido do Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará: diluído em solução salina 0,9%;

- Indometacina (Merck Shope e Dohne): dissolvida em solução de bicarbonato de sódio a 5%;
- Ifosfamida (HOLOXANE[®], 1 mg - Asta Médica, AG Frankfurt, Alemanha): dissolvida em solução salina 0,9%;
- Meloxicam (MOVATEC[®] - Boehringer Ingelheim do Brasil, Química e Farmacêutica Ltda): diluída em solução salina 0,9%;
- Mesna (MITEXAN[®] 200 mg- Asta Médica, AG Frankfurt, Alemanha): diluído em solução salina 0,9%;
- Mesna (MITEXAN[®] 400 e 600 mg – Asta Médica, AG Frankfurt, Alemanha): comprimido diluído em solução salina 0,9%.
- Ternatina (Flavonóide isolado do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less., Macela) obtido do Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará: dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) a 5%;
- Água destilada
- Álcool etílico 70% (Reagen)
- Bircarbonato de sódio
- Dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% – Grupo Química
- Eosina (Merk).
- Formol 10% (Formol concentrado – Merck – 10,0 mL
Água destilada q. s. p. – 100,0 mL)
- Hematoxilina (Reagen)
- Soro fisiológico 0,9% (NaCl 0,15M), frasco de 250 mL – CEME

2.4. Protocolo Experimental

2.4.1. Indução de Cistite Hemorrágica

Ratos Wistar machos, pesando de 150 a 200 gramas receberam injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso do rato) imediatamente antes da administração *ip* de ciclofosfamida (CFS) ou ifosfamida (IFS) nas doses de 200 ou 400 mg/kg, respectivamente, e 2 doses de salina (1 mL/200 g de peso do rato) 4 e 8 horas depois. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, 24 horas após a administração de CFS ou IFS. Em seguida, através de uma incisão abdominal mediana, realizou-se cuidadosa dissecação vesical, sendo as bexigas seccionadas junto ao colo e abertas, desprezando-se o conteúdo urinário (Ver Figura 6). As bexigas foram, então, pesadas e imersas em formol a 10%. A cistite hemorrágica foi avaliada por alterações no peso úmido vesical e por alterações nas análises macroscópicas e histopatológicas das bexigas, descritas a seguir.

2.4.2. Parâmetros Avaliados na Cistite Hemorrágica

2.4.2.1. Avaliação do Peso Úmido Vesical

Depois de dissecadas e retirado o conteúdo urinário, as bexigas foram pesadas, sendo o peso úmido vesical expresso em mg/100 gramas de peso do animal. O edema vesical foi quantificado por aumento do peso úmido vesical, reportado como média \pm EPM/100 g de peso do animal.

2.4.2.2. Análise Macroscópica

As bexigas foram examinadas quanto ao edema e hemorragia, grosseiramente, logo que foram dissecadas e retirado o conteúdo urinário (Ver Figura 6), de acordo com os critérios de Gray *et al.*, 1986, que são os seguintes:

Edema:

- Severo (3+): edema interno e externo;
- Moderado (2+): edema interno (mucosa);
- Leve (1+): intermediário;
- Normal (0): nenhum.

Hemorragia:

- (3+): coágulo intra-vesical;
- (2+): hematomas na mucosa;
- (1+): telangiectasia ou dilatação dos vasos da bexiga;
- (0): Normal.

2.4.2.3. Análise Histopatológica (Análise Microscópica)

Depois de dissecadas, retirado o conteúdo urinário, pesadas, analisadas macroscopicamente, as bexigas foram imersas em formol a 10% por 12 horas, desidratadas, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram obtidos

cortes com 5 μm que foram corados pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) e analisados à microscopia óptica. As alterações histológicas foram determinadas de acordo com os critérios de Gray *et al.*, 1986, que são os seguintes:

- **(0) – Histologia Normal:** caracterizada por epitélio urotelial normal, ausência de infiltrado inflamatório e ausência de úlceras.
- **(1+) – Alterações Discretas:** caracterizadas por redução no número de células epiteliais uroteliais em decorrência de descamação, apagamento das dobras de mucosa habituais em virtude do edema submucoso, hemorragia discreta e poucas úlceras.
- **(2+) – Alterações Intensas:** caracterizadas por exulceração da mucosa, múltiplas úlceras, edema acentuado, infiltrado inflamatório, depósito de fibrina e hemorragia.

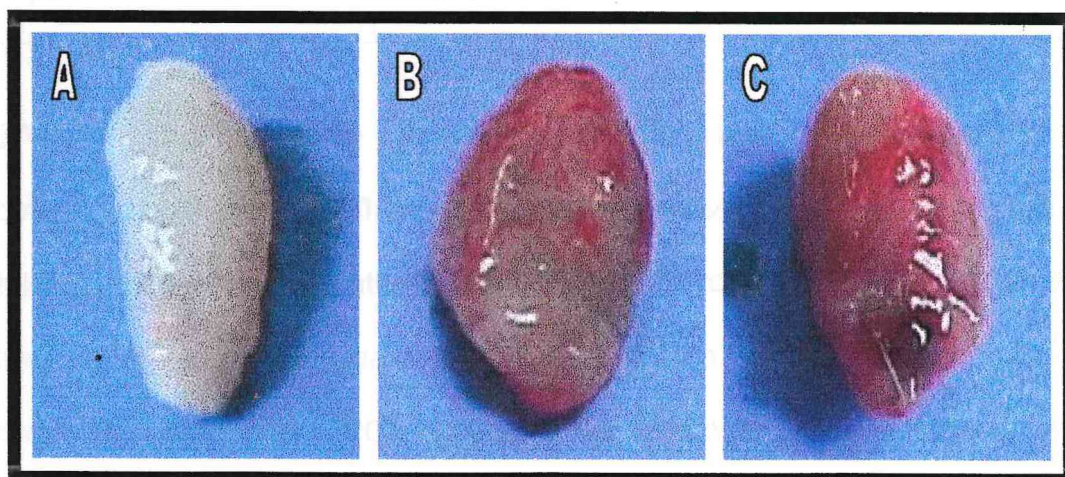


FIGURA 6 – Aspecto macroscópico da bexiga de um rato normal (A) ou das bexigas de ratos com cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (B) e ifosfamida (C). Nota-se extenso edema e hemorragia presentes em B e C.

R 1332058/00

2.5. Delineamentos Experimentais

Para cada delineamento experimental, de 6 grupos de 6 animais por cada grupo, foram distribuídas as drogas na seguinte ordem:

Grupo 1		Salina	→	Salina	→	Salina	
Grupo 2	Salina	→	QAA	→	Salina	→	Salina
Grupo 3	Mesna	→	QAA	→	Mesna	→	Mesna
Grupo 4	Mesna	→	QAA	→	Mesna	→	AI
Grupo 5	Mesna	→	QAA	→	AI	→	AI
Grupo 6	AI	→	QAA	→	AI	→	AI

*QAA = Quimioterápico Antineoplásico Alquilante (Ciclofosfamida ou Ifosfamida); AI = Antiinflamatórios (Dexametasona ou Indometacina ou Meloxicam ou Produtos Naturais como Extrato hidroalcolico (20% de etanol) da casca de *Myracrodroun urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão), Fração aquosa do extrato hidroalcolico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasito) ou Ternatina (flavonóide isolado do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less., Macela.

2.5.1. Avaliação do Efeito da Dexametasona na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Dexametasona e do Mesna

2.5.1.1. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas por dexametasona (1 mg/kg, *ip*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.1.2. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da

administração de IFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas por dexametasona (1 mg/kg, *ip*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.2. Avaliação do Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Dexametasona oral e do Mesna oral

2.5.2.1. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna (80 mg/kg, *vo*) 2 e 6 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, a 3^a dose de mesna (80 mg/kg, *vo*) foi substituída por dexametasona (4 mg/kg, *vo*), ou em outro grupo, a 2^a e 3^a doses de mesna (80 mg/kg, *vo*) foram substituídas por dexametasona (4 mg/kg, *vo*) e finalmente em outro grupo, a 1^a dose de mesna (40 mg/kg, *ip*) foi substituída por dexametasona (1 mg/kg, *ip*), e a 2^a e 3^a doses de mesna foram substituídas por dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois

da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.2.2. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna (160 mg/kg, *vo*) 2 e 6 horas depois da administração de IFS. Em outros grupos experimentais, a 3^a dose de mesna (160 mg/kg, *vo*) foi substituída por dexametasona (4 mg/kg, *vo*), ou em outro grupo a 2^a e 3^a doses de mesna (160 mg/kg, *vo*) foram substituídas por dexametasona (4 mg/kg, *vo*) e finalmente em outro grupo, a 1^a dose de mesna (80 mg/kg, *ip*) foi substituída por dexametasona (1 mg/kg, *ip*), e a 2^a e 3^a doses de mesna foram substituídas por dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.3. Avaliação do Efeito da Administração de Apenas Uma Dose de Mesna na Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida e Ifosfamida

2.5.3.1. Efeito da Administração de Apenas Uma Dose de Mesna na Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=18 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de CFS. Em outro grupo experimental, uma dose de Mesna (40 mg/kg, *ip*) foi administrada imediatamente antes da administração da CFS e duas doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*) foram administradas 4 e 8 horas depois da CFS. A cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.3.2. Efeito da Administração de Apenas Uma Dose de Mesna na Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=18 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de

peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de IFS. Em outro grupo experimental, uma dose de Mesna (80 mg/kg, *ip*) foi administrada imediatamente antes da administração da IFS e duas doses de salina (1 mL/200 g de peso do rato, *ip*) foram administradas 4 e 8 horas depois da IFS. A cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.4. Avaliação do Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação (Mesna + Dexametasona) na Potenciação da Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS), quando comparado com o Efeito de Três Doses de Mesna

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna [160 mg/kg, via oral (*vo*)] 2 e 6 horas depois da administração de IFS. Em outro grupo experimental, a segunda e terceira doses de Mesna (160 mg/kg, *vo*) foram substituídas por Mesna (160 mg/kg, *vo*) + dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.5. Avaliação do Percentual de Alterações Macroscópicas e Histopatológicas (Microscópicas) das Bexigas de 18 Ratos Tratados com 3 doses de Mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Três grupos de ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de CFS (200 mg/kg) e foram tratados com mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente antes, 4 e 8 horas depois da administração de CFS; ou foram tratados com 1 dose de mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da CFS, e 2 doses de dexametasona (1 mg/kg, *ip*) 4 e 8 horas depois; e ou foram tratados com 1 dose de mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração de CFS, e 2 doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato) 4 e 8 horas depois. Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, através do percentual de alterações macroscópicas (edema e hemorrágia) e alterações histopatológicas ou microscópicas (erosão de mucosa, infiltração celular inflamatória e ulcerações) das bexigas dos 18 ratos avaliados através dos escores de Gray, conforme descrito nos itens 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.6. Avaliação do Percentual de Alterações Macroscópicas e Histopatológicas (Microscópicas) das Bexigas de 18 Ratos Tratados com 3 doses de Mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 dose de mesna + 2 doses da associação (mesna + dexametasona) ou 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Três grupos de ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de IFS (400 mg/kg) e foram tratados com mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente antes, 4 e 8 horas depois da administração de IFS; ou foram tratados com 1 dose de mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da IFS e 2 doses de dexametasona (1 mg/kg, *ip*) 4 e 8 horas depois; ou foram tratados com 1 dose de mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da IFS e 2 doses da associação de mesna (160 mg/kg, *vo*) + dexametasona (4 mg/kg, *vo*), 2 e 6 horas depois da administração da IFS e, ou foram tratados com 1 dose de mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração de IFS e 2 doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato) 4 e 8 horas depois. Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, através do percentual de alterações macroscópicas (edema e hemorragia) e alterações histopatológicas ou microscópicas (erosão de mucosa, infiltração celular inflamatória e ulcerações) das bexigas dos 18 ratos avaliados através dos escores de Gray, conforme descrito nos itens 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.7. Avaliação do Efeito da Indometacina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Indometacina e do Mesna

2.5.7.1. Efeito da Indometacina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas por indometacina [1 mg/kg, via subcutânea (*sc*)]. Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.7.2. Efeito da Indometacina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da

administração de IFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas por indometacina (1 mg/kg, via subcutânea). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.8. Avaliação do Efeito do Meloxicam na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos do Meloxicam e do Mesna

2.5.8.1. Efeito do Meloxicam na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna [80 mg/kg, via oral (*vo*)] 2 e 6 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, a primeira dose de Mesna (40 mg/kg, *ip*) foi substituída por meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*) ou a segunda e terceira doses de Mesna (80 mg/kg, *vo*) foram substituídas por meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e

avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.8.2. Efeito do Meloxicam na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna [160 mg/kg, via oral (*vo*)] 2 e 6 horas depois da administração de IFS. Em outros grupos experimentais, a primeira dose de Mesna (80 mg/kg, *ip*) foi substituída por meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*) ou a segunda e terceira doses de Mesna (160 mg/kg, *vo*) foram substituídas por meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.9. Avaliação do Efeito do Extrato Hidroalcolico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira do Sertão) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Aroeira do Sertão e do Mesna

2.5.9.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira do Sertão) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna [80 mg/kg, via oral (*vo*)] 2 e 6 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, a primeira dose de Mesna (40 mg/kg, *ip*) foi substituída pelo extrato hidroalcoólico de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (400 mg/kg, *vo*) ou a segunda e terceira doses de Mesna (80 mg/kg, *vo*) foram substituídas pelo extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (400 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.9.2. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (Aroeira) na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, e tratados com salina ou Mesna [160 mg/kg, via oral (*vo*)] 2 e 6 horas depois da administração de IFS. Em outros grupos experimentais, a primeira dose de Mesna (80 mg/kg, *ip*) foi substituída pelo extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All. (400 mg/kg, *vo*) ou a segunda e terceira doses de Mesna (160 mg/kg, *vo*) foram substituídas pelo extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr.All (400 mg/kg, *vo*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.10. Avaliação do Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos do Mentrasto e do Mesna

2.5.10.1. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (50 mg/kg, *ip*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da CFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.10.2. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Os animais (ratos Wistar machos pesando de 150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de IFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (50 mg/kg, *ip*). Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.11. Avaliação do Efeito da Ternatina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida ou Ifosfamida – Comparação dos Efeitos da Ternatina e do Mesna

2.5.11.1. Efeito Ternatina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ciclofosfamida (CFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g; n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de

rato) ou de CFS (200 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de CFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas por ternatina [25 mg/kg, via subcutânea (*sc*)]. E em outro grupo experimental, as 3 doses de mesna foram substituídas por DMSO a 5% (Dimetilsulfóxido, diluente da ternatina) para observar se o DMSO apresenta alguma atividade antiinflamatória nesta concentração, e mascare a atividade da ternatina. Cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.5.11.2. Avaliação do Efeito da Ternatina na Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS)

Nos grupos controles, ratos Wistar machos (150-200 g, n=6 por grupo) receberam uma injeção intraperitoneal (*ip*) de salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou IFS (400 mg/kg) e foram tratados com salina (1 mL/200 g de peso de rato) ou Mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente, 4 e 8 horas depois da administração de IFS. Em outros grupos experimentais, 1, 2 ou 3 doses de Mesna foram substituídas por ternatina [25 mg/kg, via subcutânea (*sc*)]. E em outro grupo experimental, as 3 doses de mesna foram substituídas por DMSO a 5% (Dimetilsulfóxido, diluente da ternatina) para observar se o DMSO apresenta alguma atividade antiinflamatória nesta concentração, e mascare a atividade da ternatina. A cistite hemorrágica foi avaliada 24 horas depois da

administração da IFS, pela determinação das mudanças no peso úmido vesical, análise macroscópica e avaliação histopatológica, conforme descrito nos itens 2.4.2.1., 2.4.2.2. e 2.4.2.3., respectivamente.

2.6. Análise Estatística

Os resultados do aumento de peso úmido vesical foram reportados como média \pm EPM, acompanhado pelo número de observações (n). A diferença estatística entre grupos foi determinada através de Análise de Variância (ANOVA) e teste de Bonferroni.

Os dados da análise macroscópica e avaliação histopatológica foram expressos como mediana e os testes estatísticos aplicados foram os de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney.

O nível de significância para todas essas situações foi de $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3 RESULTADOS

3.1. Avaliação do efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS)

3.1.1. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (150%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) (94,45% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna por dexametasona (1 mg/kg, *ip*) (91,68 e 97,23% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 7. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por dexametasona, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 7.

3.1.2. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 -3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 1. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por dexametasona (1 mg/kg, *ip*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses de dexametasona após 1 dose de mesna ocorre uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 1. Por outro lado o uso de 3 doses de dexametasona substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 1.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 8 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 8 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 8 E) por dexametasona na cistite

hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 8 C), mas não com àqueles obtidos com 3 doses de dexametasona (Figura 8 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 1.

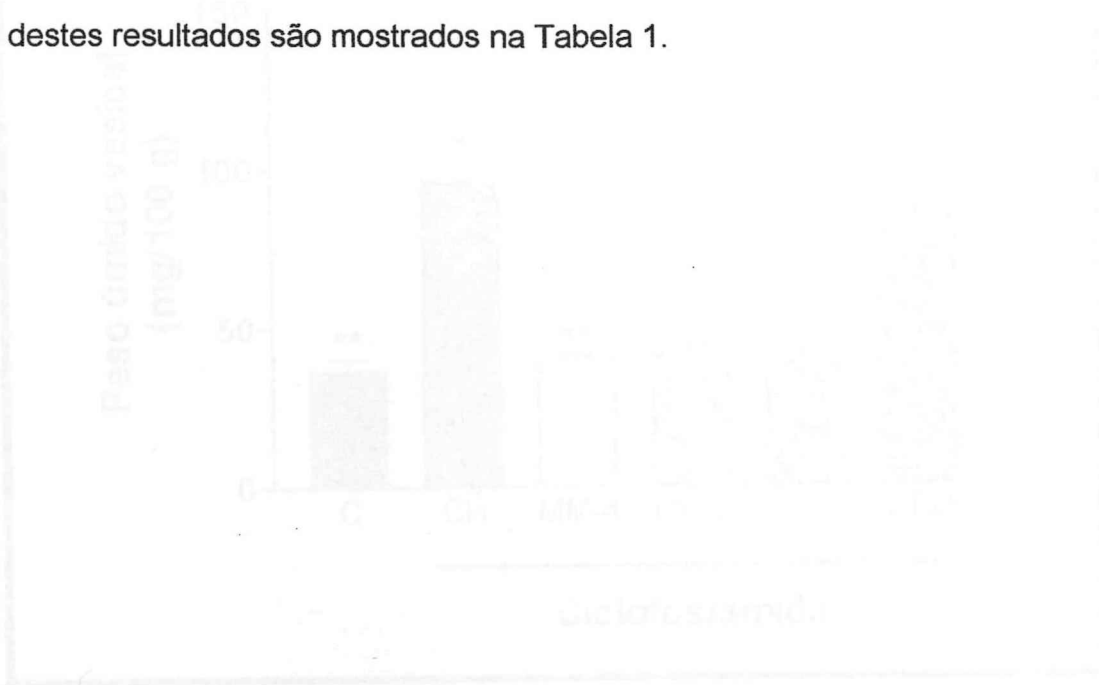


FIGURA 7. Efeitos dos diferentes tratamentos com doses efêmeras (ip) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução. Os grupos foram tratados apenas com CFS (C), ou no grupo de tratamento com Mesna (MM) – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e duas 6 horas depois), nos grupos dos tratamentos com dexametasona (D) – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e duas 6 horas depois), ou no grupo de tratamento com dexametasona (D) – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e uma 6 horas depois). Os resultados são reportados pelas médias e desvios padrões. O valor de p para o teste de significância estatística é indicado por asteriscos (* p < 0,05).

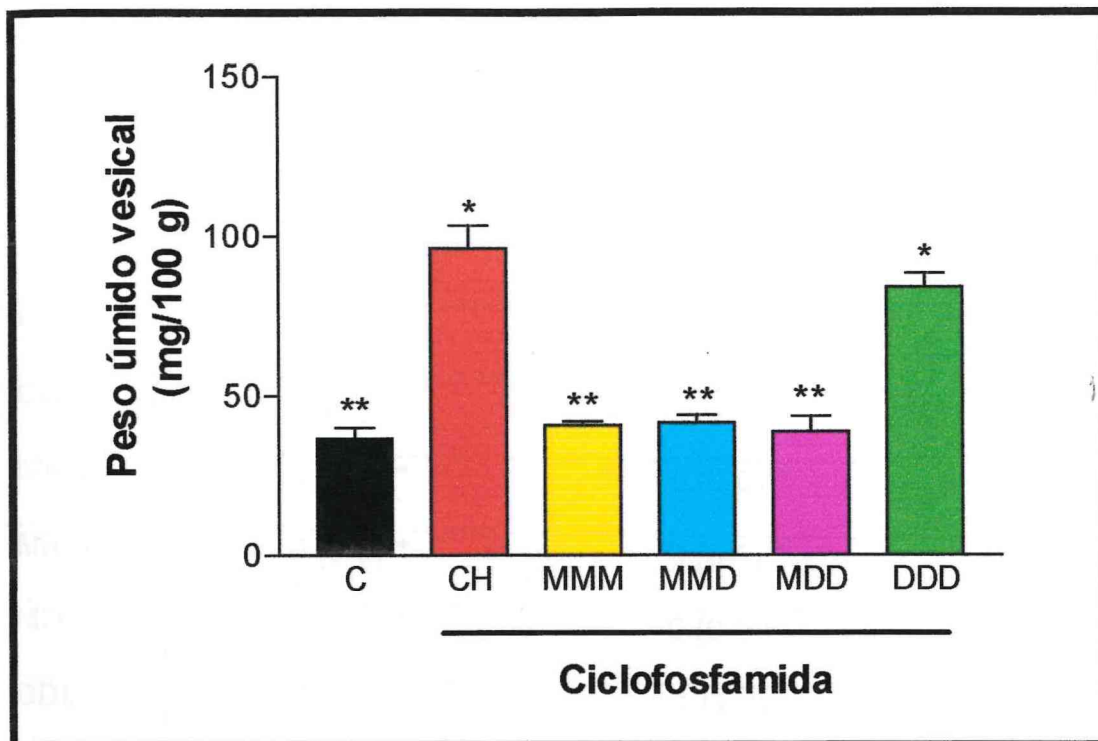


FIGURA 7. Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (*ip*) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de dexametasona 8 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de dexametasona 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com CFS (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

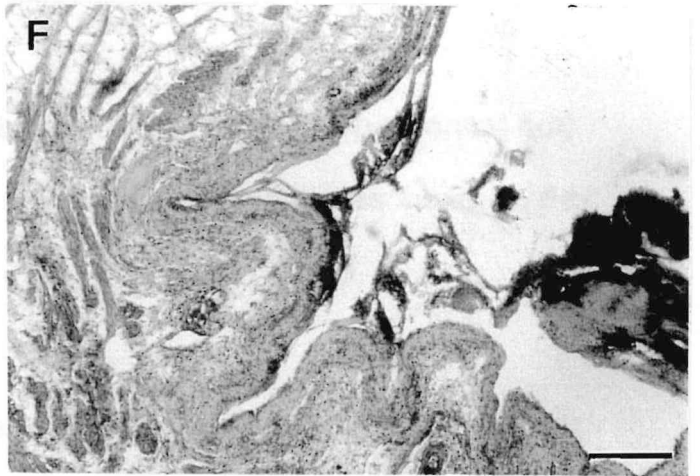
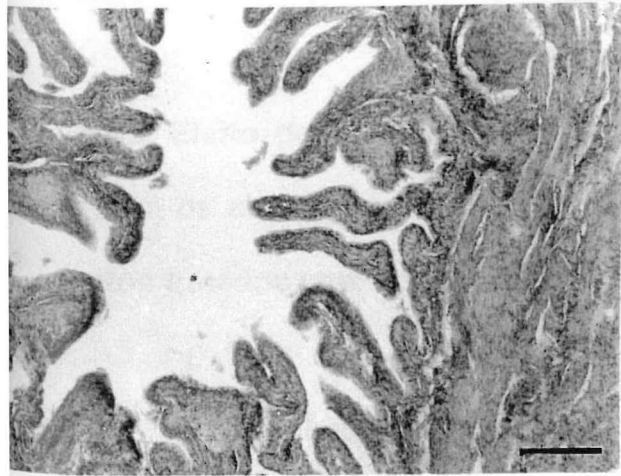
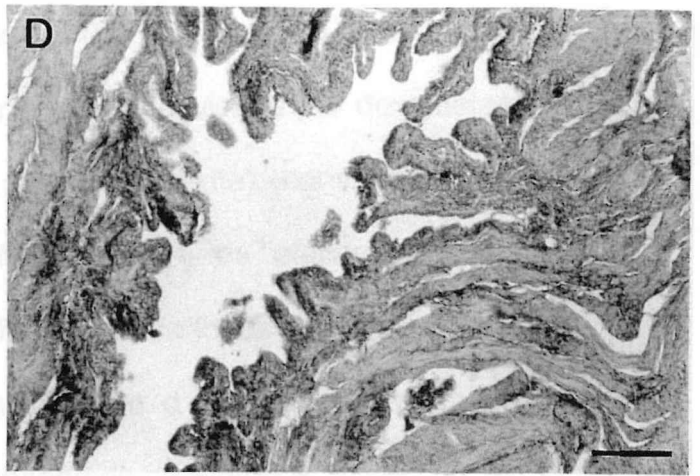
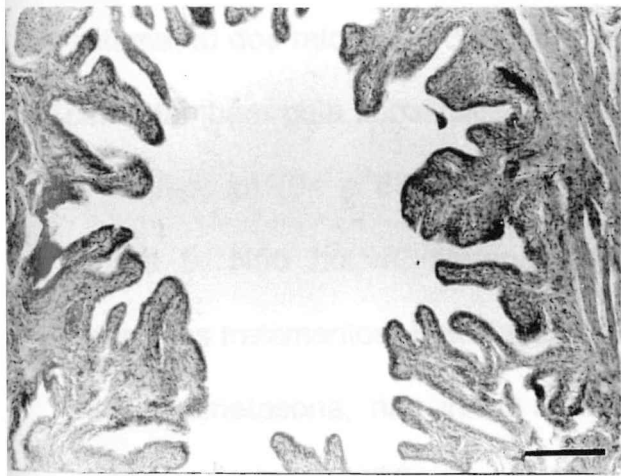
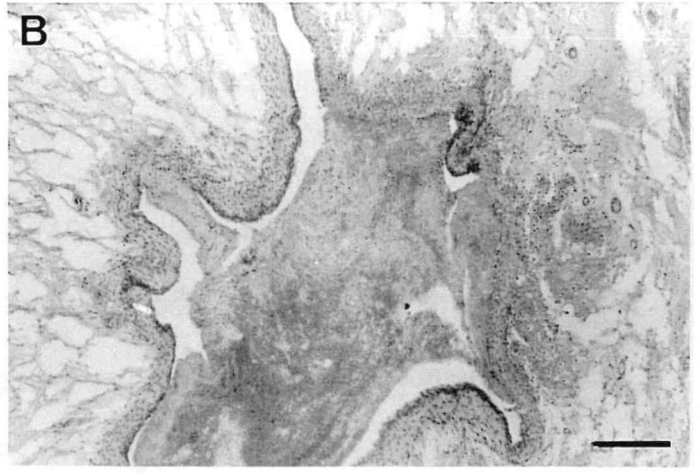
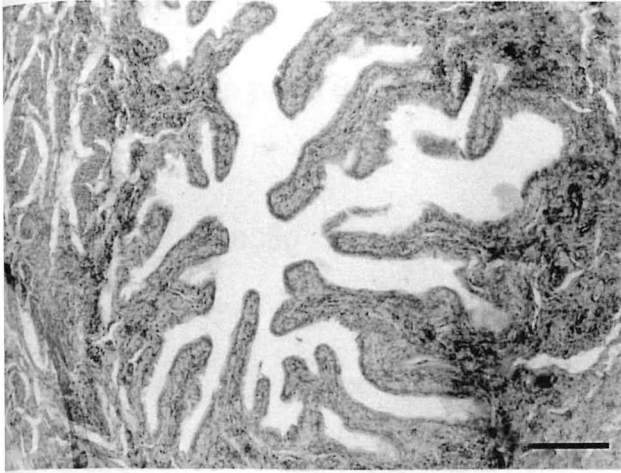
TABELA 1 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (*ip*) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMD	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MDD	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
DDD	1 (0-3)*	1 (1-3)*	2 (1-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de dexametasona 8 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de dexametasona 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com CFS (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 8

FIGURA 8. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via intra-peritoneal na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose de dexametasona (1 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de dexametasona (1 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de dexametasona (1mg/kg, *ip*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.2. Avaliação do efeito da dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.2.1. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (208,58%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) (80% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna por dexametasona (1 mg/kg, *ip*) (84 e 88% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 9. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por dexametasona, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por IFS, que pode ser observado na Figura 9.

3.2.2. Efeito da Dexametasona administrada por via intraperitoneal (*ip*) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com

hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 -3) e sendo significativamente ($p<0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p<0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 2. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por dexametasona (1 mg/kg, *ip*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses de dexametasona após 1 dose de mesna quase ocorre ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 2. Por outro lado o uso de 3 doses de dexametasona substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 2.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 10 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p<0,05$) pela substituição de 1 (Figura 10 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 10 E) por dexametasona na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 10 C), mas não com àqueles obtidos com 3 doses de dexametasona (Figura 10 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 2.

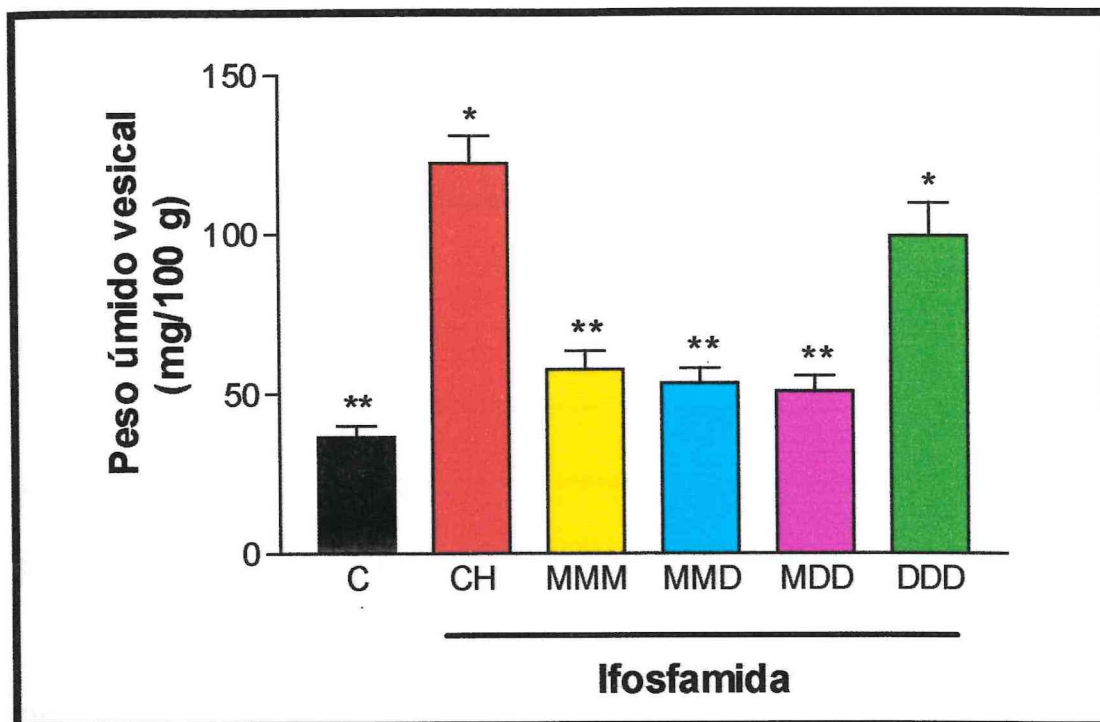


FIGURA 9. Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (*ip*) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de dexametasona 8 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de dexametasona 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

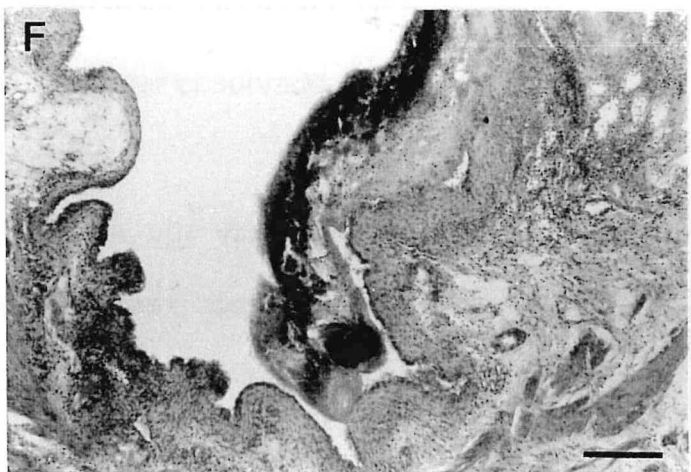
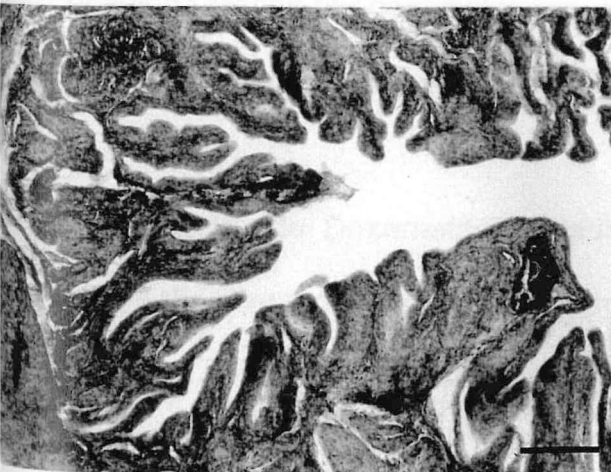
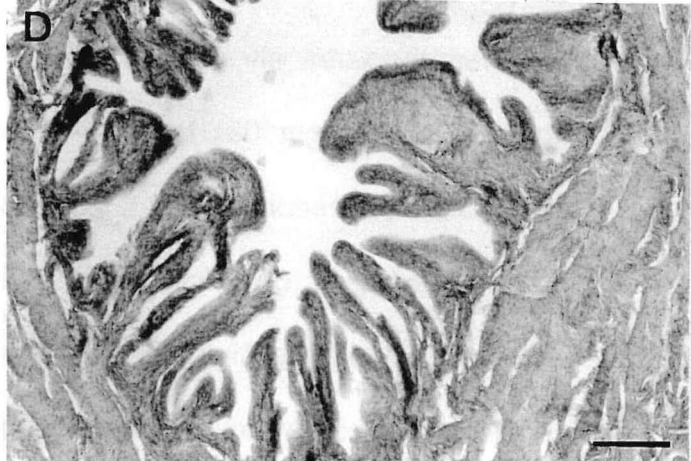
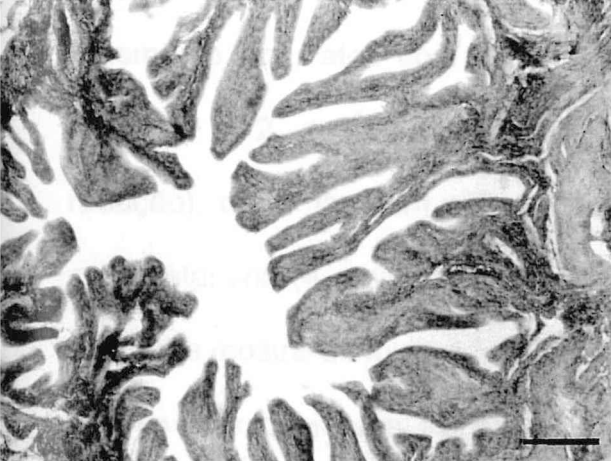
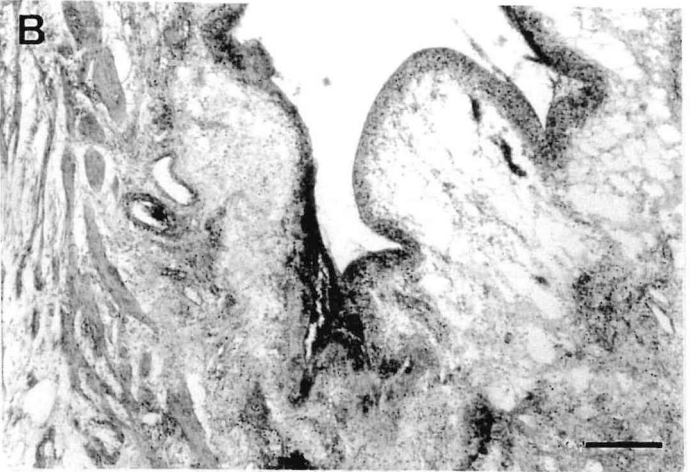
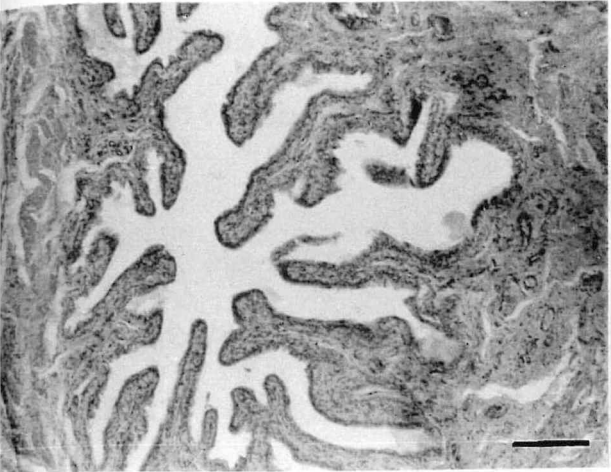
TABELA 2 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (*ip*) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica	Análise Macroscópica	Análise Microscópica
	(Edema)	(Hemorragia)	
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-1)**	0 (0-2)**	0 (0-1)**
MMD	0,5 (0-1)**	0,5 (0-2)**	0 (0-1)**
MDD	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
DDD	2 (1-3)*	2,5 (1-3)*	2 (2-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de dexametasona 8 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de dexametasona 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 10

FIGURA 10. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via intra-peritoneal na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose de dexametasona (1 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de dexametasona (1 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de dexametasona (1mg/kg, *ip*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 μ m.



3.3. Avaliação dos efeitos da Dexametasona administrada por via oral (vo) na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS)

3.3.1. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (150,12%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (40 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (80 mg/kg) (91,68% de redução), como também pela substituição de 2ª ou 3ª doses de Mesna por dexametasona (4 mg/kg, vo) (94,45 e 97,23% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 11. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por dexametasona, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 11.

3.3.2. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de

severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (40 mg/kg, *ip*) + a 2ª e 3ª doses por via oral (80 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 3. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna dexametasona (4 mg/kg, *vo*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administrava 2 doses de dexametasona após 1 de mesna ocorria uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 3. Por outro lado, o uso de 3 doses de dexametasona substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 3.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (1 - 2), como mostrado na Figura 12 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 12 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 12 E) por dexametasona na cistite hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 12 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de dexametasona (Figura 12 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 3.

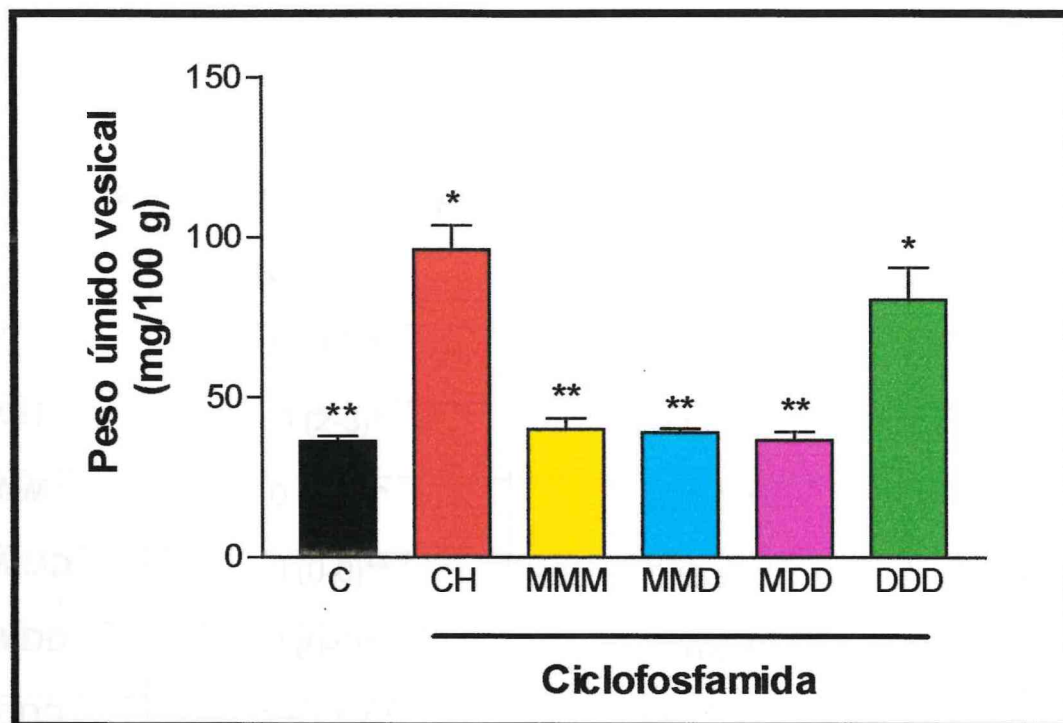


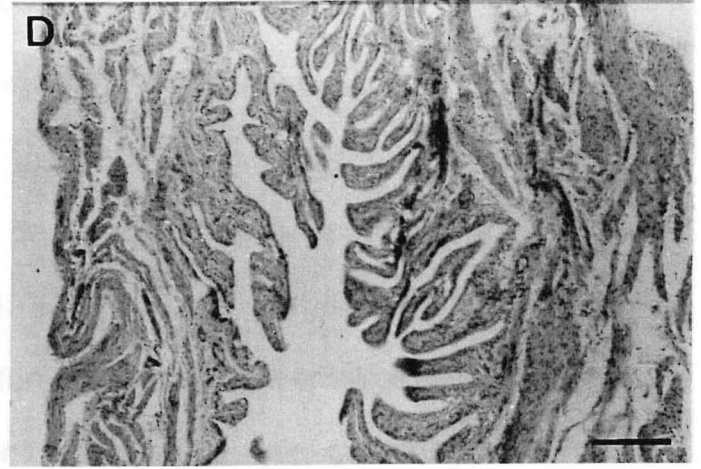
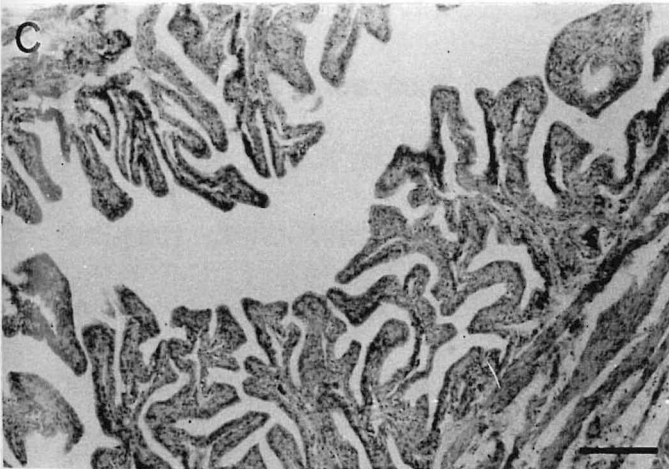
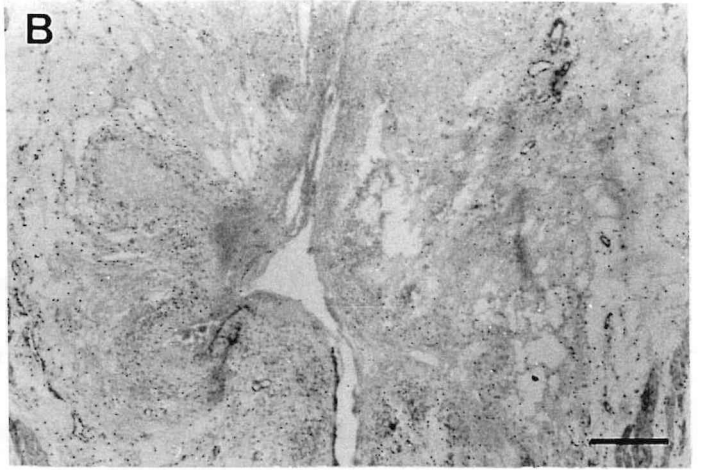
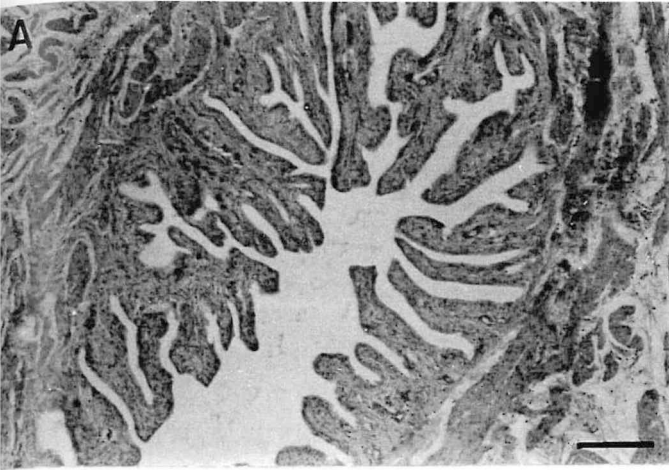
FIGURA 11. Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 2 e 6 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 2 h depois e 1 dose de dexametasona 6 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de dexametasona 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 3 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (vo) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMD	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MDD	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
DDD	2,5 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 2 h depois e 1 dose de dexametasona 6 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de dexametasona 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 12. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via oral na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ciclofosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ciclofosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ciclofosfamida, *ip*, e a 2ª dose = 40% da dose de ciclofosfamida, *vo*) e 1 dose de dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*) e 2 doses de dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de dexametasona (4mg/kg, *vo*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.4. Avaliação dos efeitos da Dexametasona administrada por via oral (vo) na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.4.1. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (139,46%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (160 mg/kg) (84,79% de redução), como também pela substituição de 2ª ou 3ª doses de Mesna por dexametasona (4 mg/kg, vo) (84,79 e 89,13% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 13. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por dexametasona, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por IFS, que pode ser observado na Figura 13.

3.4.2. Efeito da Dexametasona administrada por via oral (vo) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de

severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses por via oral (160 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 4. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna dexametasona (4 mg/kg, vo) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administrava 2 doses de dexametasona após 1 de mesna quase ocorria ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 4. Por outro lado, o uso de 3 doses de dexametasona substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 4.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (1 - 2), como mostrado na Figura 14 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 14 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 14 E) por dexametasona na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 14 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de dexametasona (Figura 14 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 4.

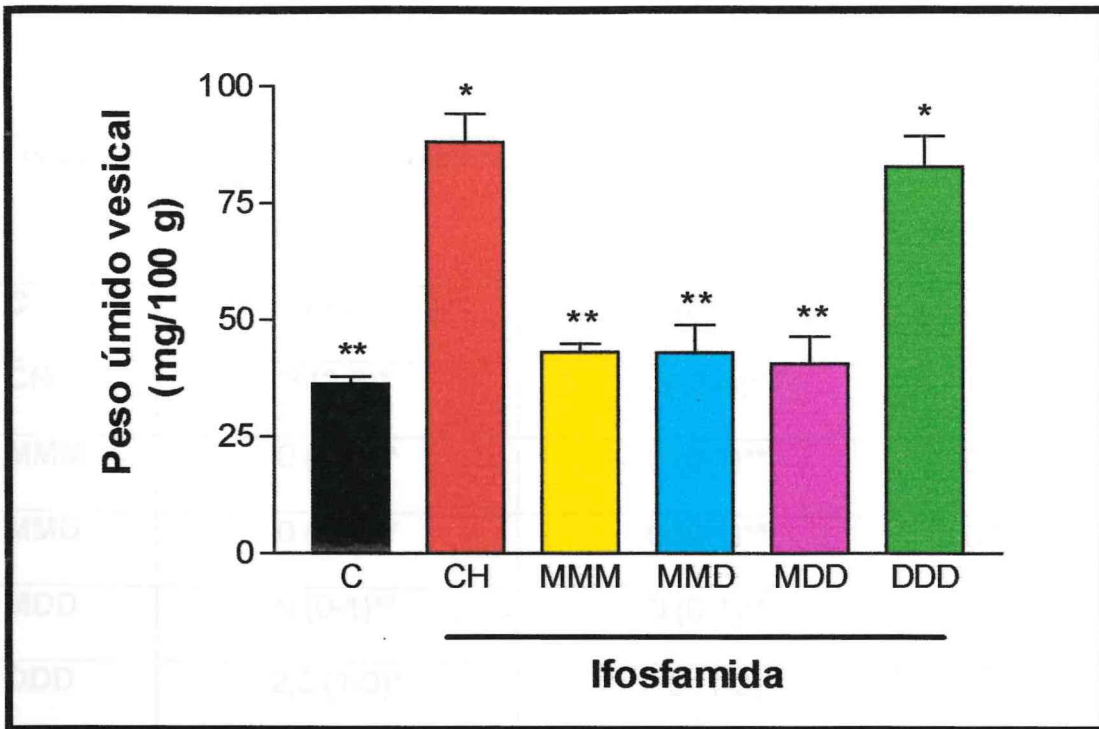


FIGURA 13. Efeitos dos diferentes tratamentos com dexametasona (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 2 h depois e 1 dose de dexametasona 6 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de dexametasona 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 4 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da dexametasona (vo) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS).

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
MMM	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MMD	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MDD	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
DDD	2,5 (1-3)*	2,5 (1-3)*	2 (1-2)*

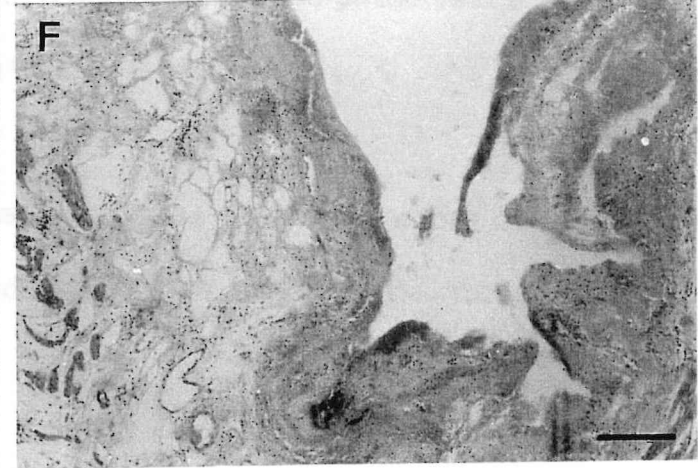
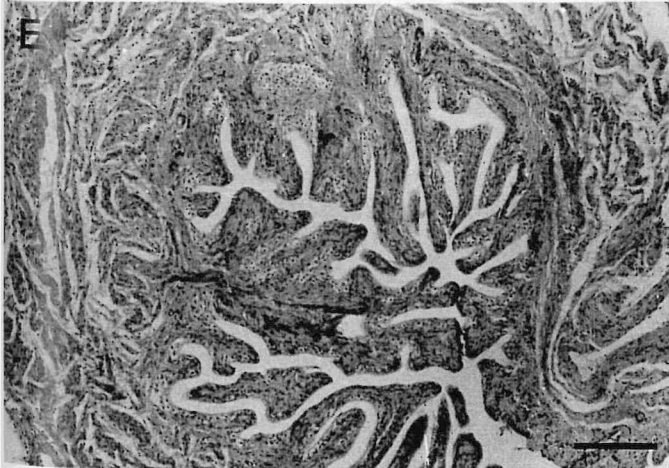
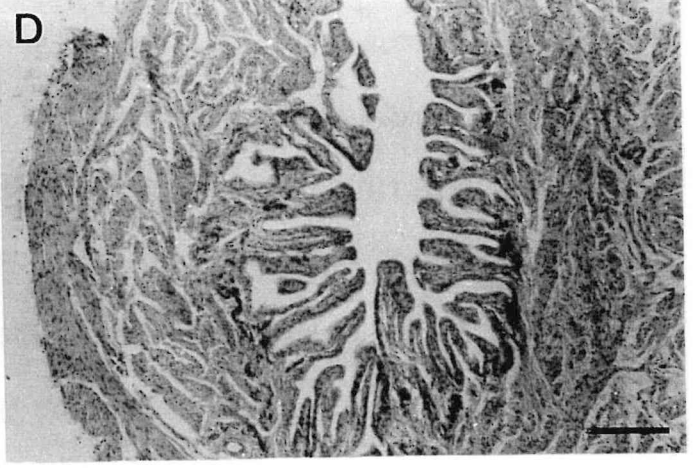
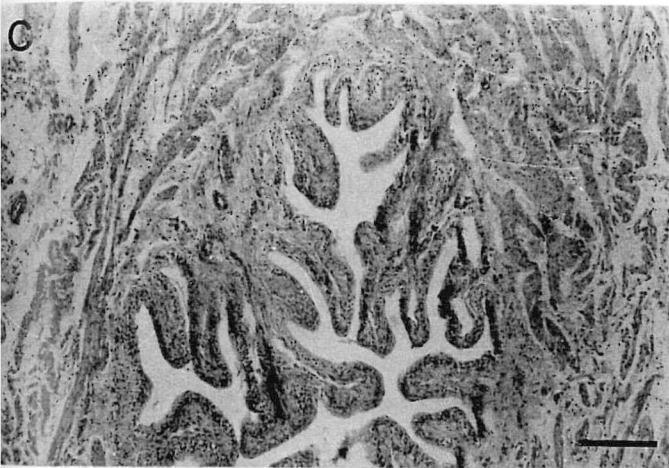
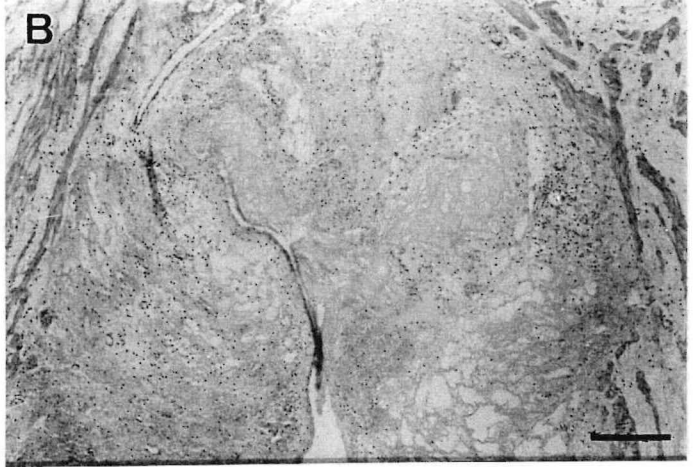
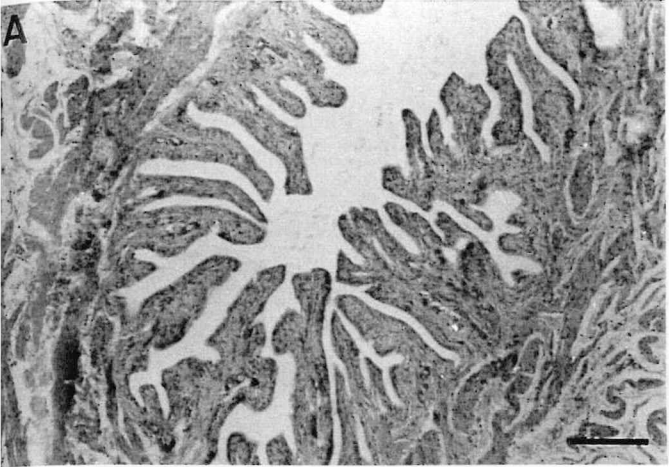
A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + dexametasona (MMD – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 2 h depois e 1 dose de dexametasona 6 h depois; MDD – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de dexametasona 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com dexametasona (DDD – 3 doses de dexametasona, uma 30 min antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

The following text is extremely faint and illegible. It appears to be a series of lines of text, possibly a list or a set of instructions, but the characters are too light to be accurately transcribed. The text is centered on the page and spans approximately the middle third of the page's height.

FIGURA 14

FIGURA 14. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da dexametasona administrada por via oral na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida.

A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ifosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª dose = 40% da dose de ifosfamida, *vo*) e 1 dose de dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*) e 2 doses de dexametasona (4 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de dexametasona (4mg/kg, *vo*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.5. Avaliação do efeito da administração de apenas uma dose de mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS).

3.5.1. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (135,34%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) (91,31% de redução), conforme mostra a Figura 15. Entretanto, a administração de apenas uma dose de mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da CFS e duas doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*) 4 e 8 horas depois da CFS, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 15.

3.5.2. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com

hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 -3) e sendo significativamente ($p<0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p<0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 5. Por outro lado o uso de apenas uma dose de mesna (40 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da CFS e duas doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*) 4 e 8 horas depois da CFS, não levou a inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 5.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 16 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p<0,05$) pelo uso de três doses de Mesna (Figura 16 C), mas não com àqueles obtidos com o uso de apenas uma dose de mesna imediatamente antes da administração da CFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois da CFS (Figura 16 D). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 5.

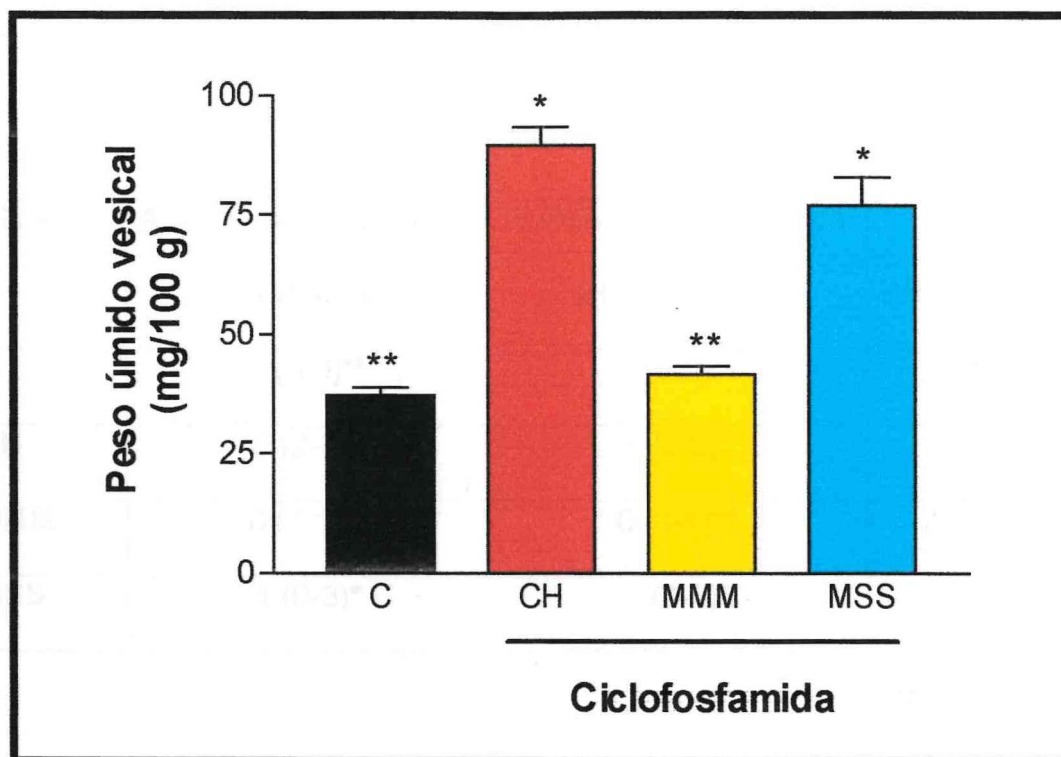


FIGURA 15. Efeitos do tratamento com apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 horas depois), e no grupo dos animais tratados com apenas uma dose de mesna (MSS – uma dose de mesna imediatamente antes da CFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 5 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MSS	1 (0-3)*	1 (0-3)*	0,5 (0-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois), e no grupo dos animais tratados com apenas uma dose de mesna (MSS – uma dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de salina 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

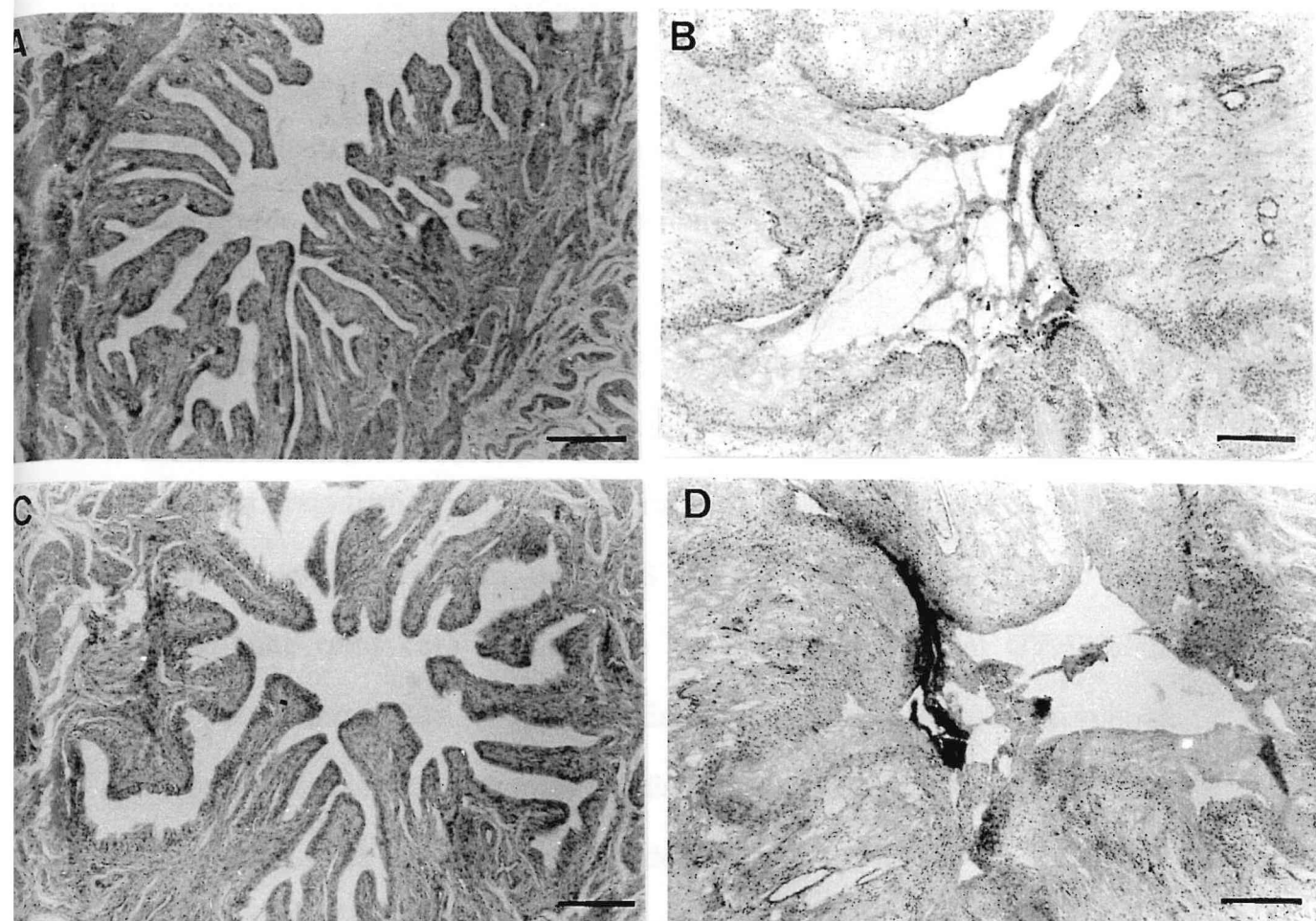


FIGURA 16. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. **A:** Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (40 mg/kg, *ip*) e 2 doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 μ m.

3.6. Avaliação do efeito da administração de apenas uma dose de mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.6.1. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (182,76%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) (77,58% de redução), conforme mostra a Figura 17. Entretanto, a administração de apenas uma dose de mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da IFS, e duas doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*) 4 e 8 horas depois da IFS, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por IFS, como pode ser observado na Figura 17.

3.6.2. Efeito da administração de apenas uma dose de mesna sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 -3)

e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 6. Por outro lado o uso de apenas uma dose de mesna (80 mg/kg, *ip*) imediatamente antes da administração da IFS e duas doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*) 4 e 8 horas depois da IFS, não levou a inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 6.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 18 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pelo uso de três doses de Mesna (Figura 18 C), mas não com àqueles obtidos com o uso de apenas uma dose de mesna imediatamente antes da administração da IFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois da IFS (Figura 18 D). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 6.

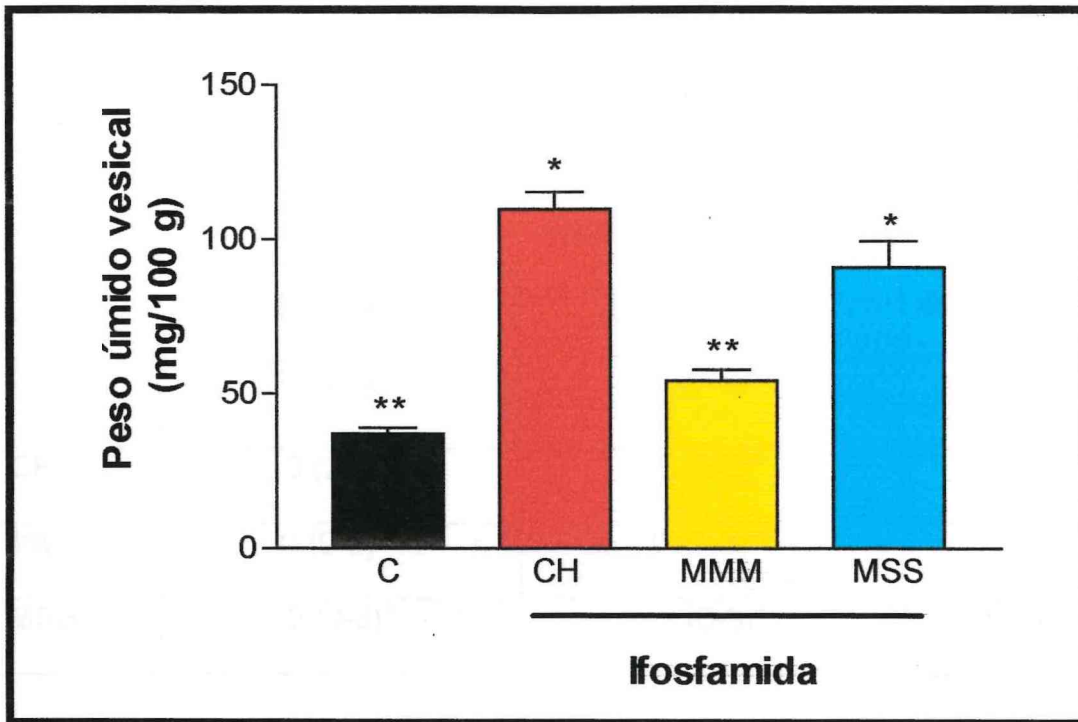


FIGURA 17. Efeitos do tratamento com apenas uma dose de mesna no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 horas depois) e no grupo dos animais tratados apenas com uma dose de mesna (MSS – uma dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 6 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
MMM	0 (0-3)**	0 (0-3)**	0 (0-2)**
MSS	2 (0-3)*	2 (0-3)*	1 (0-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois), e no grupo dos animais tratados com apenas uma dose de mesna (MSS – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

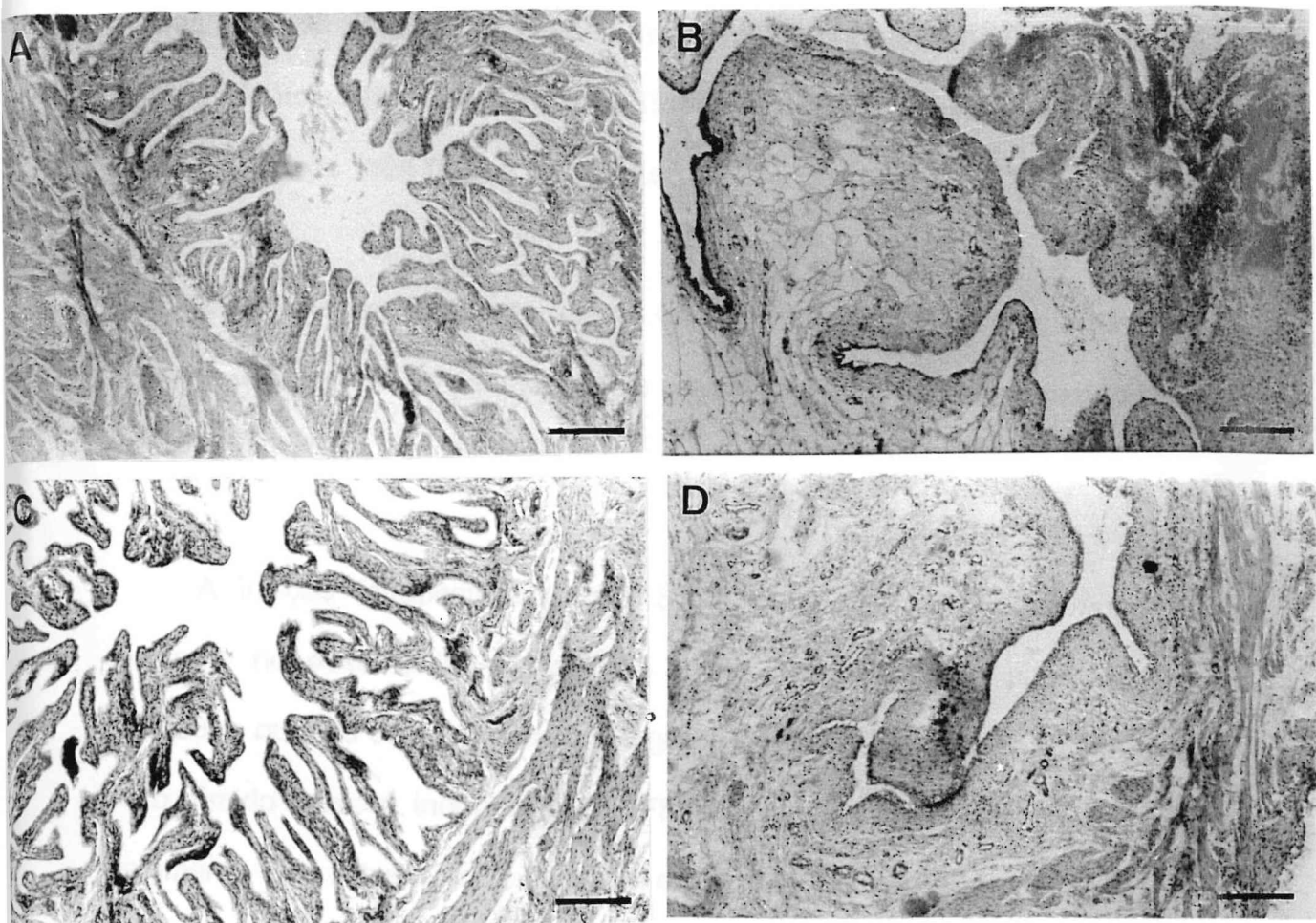


FIGURA 18. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos de apenas uma dose de mesna na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. **A:** Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de salina (1 mL/200 g de peso de rato, *ip*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 μ m.

3.7. Avaliação do Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação de (Mesna + Dexametasona) na Potenciação da Prevenção da Cistite Hemorrágica Induzida por Ifosfamida (IFS), quando comparado com o Efeito de Três Doses de Mesna

3.7.1. Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação (Mesna + Dexametasona), no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (134,58%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (160 mg/kg) (82,07% de redução), como também pela substituição de 2ª e 3ª doses de Mesna pela associação de mesna (160 mg/kg, vo) + dexametasona (4 mg/kg, vo) (100% de redução), conforme mostra a Figura 19. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses dois diferentes tratamentos. Embora, não tenha havido diferença estatística, a substituição das duas últimas doses de mesna pela associação (mesna + dexametasona) promoveu uma potenciação de 17,93% na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida, em comparação ao uso de 3 doses de mesna.

3.7.2. Efeito de Uma Dose de Mesna + Duas Doses da Associação (Mesna + Dexametasona), sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (80 mg/kg, ip) + a 2ª e 3ª doses por via oral (160 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 7. A substituição da 2ª e 3ª doses de mesna pela associação de mesna (160 mg/kg, vo) + dexametasona (4 mg/kg, vo) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que ocorria ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 7.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 20 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição da 2ª e 3ª doses de Mesna pela associação de mesna (160 mg/kg, vo) + dexametasona (4 mg/kg, vo) na cistite hemorrágica induzida por IFS (Figura 20 D), com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna

(Figura 20 C). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 7.

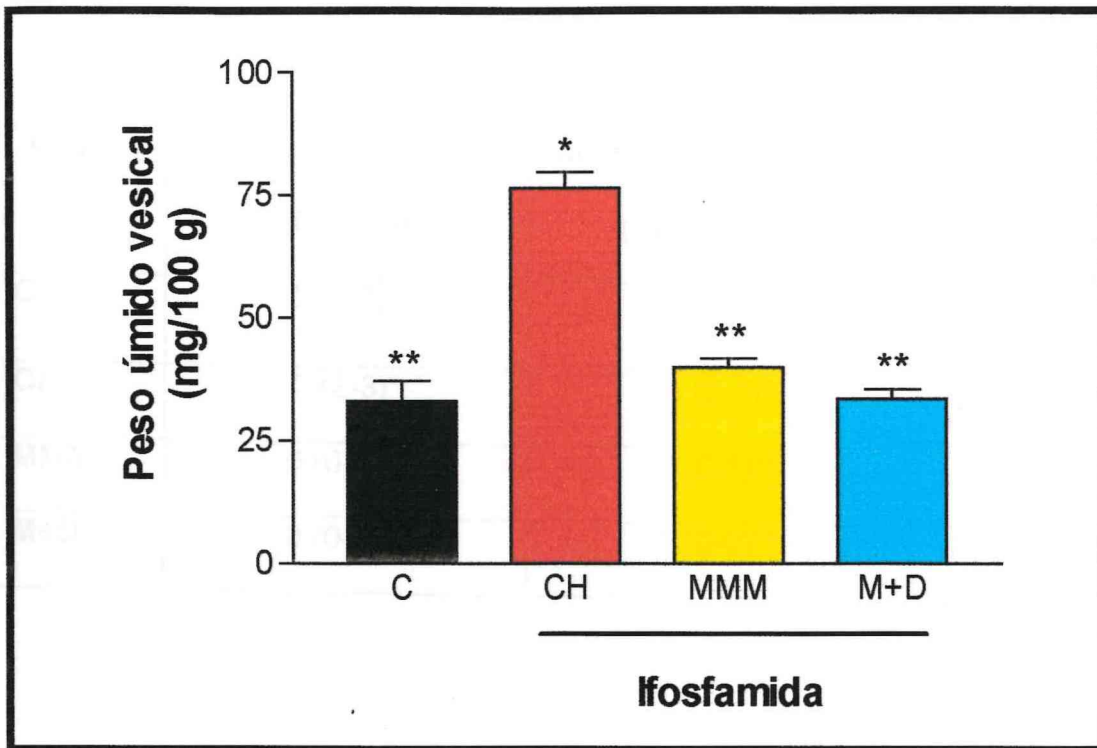


FIGURA 19. Efeitos do uso de uma dose de mesna + duas doses da associação (mesna + dexametasona) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 horas depois) e no grupo dos animais tratados com mesna + dexametasona [M+D – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses da associação (mesna + dexametasona), 2 e 6 h depois da IFS]. Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 7 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos de uma dose de mesna + duas doses da associação (mesna+dexametasona) na potenciação da inibição da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
MMM	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
M+D	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com mesna + dexametasona [M+D – uma dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses da associação (mesna+dexametasona), 2 e 6 horas depois da administração da IFS]. Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

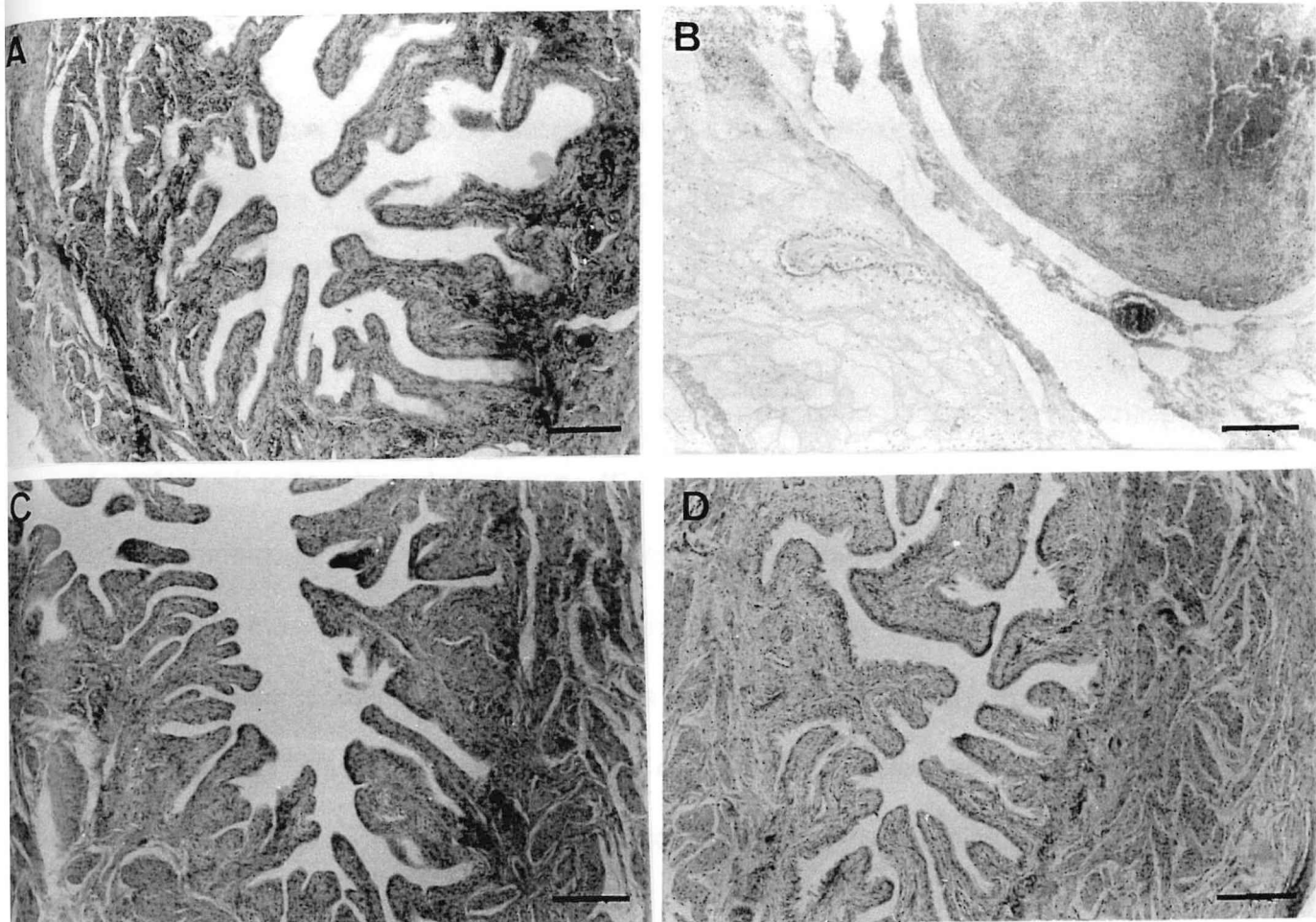


FIGURA 20. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos de uma dose de mesna + a associação (mesna+dexametasona) na potenciação da prevenção da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. **A:** Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ifosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*) e 2 doses da associação [mesna (160 mg/kg, *vo*) + dexametasona (4 mg/kg, *vo*)]. Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. Barra, 250 μ m.

3.8. Avaliação do percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas (microscópicas) das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

O total de 18 ratos tratados com 1 dose de mesna imediatamente antes da administração da ciclofosfamida (CFS) e 2 doses de Mesna 4 e 8 horas depois, mostrou 22,2% de alterações macroscópicas para edema e 27,78% de alterações macroscópicas para hemorragia; e ainda mostrou 22,2% de alterações microscópicas nas bexigas dos animais tratados com CFS e 3 doses de mesna. O tratamento com 1 dose de Mesna imediatamente antes da administração de CFS, e 2 doses de dexametasona 4 e 8 horas depois, não mostrou alterações macroscópicas e nem microscópicas nos 18 ratos avaliados. E o tratamento com 1 dose de mesna imediatamente antes da administração da CFS, e 2 doses de salina 4 e 8 horas depois, mostrou 61,1% de alterações macroscópicas para edema e para hemorragia, e 50% de alterações microscópicas nas bexigas dos 18 ratos avaliados, como pode ser observado na Tabela 8.

TABELA 8 - Percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Tratamento	% de Alterações Macroscópicas (Edema)	% de Alterações Macroscópicas (Hemorragia)	% de Alterações Microscópicas
MMM	22,2	27,78	22,2
M+D+D	0	0	0
M+S+S	61,1	61,1	50

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 horas depois), no grupo dos animais tratados com mesna + dexametasona (M+D+D – uma dose de mesna imediatamente antes da CFS e duas doses de dexametasona 4 e 8 horas depois da administração da CFS) e no grupo dos animais tratados apenas com 1 dose de mesna (M+S+S – uma dose de mesna imediatamente antes da CFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois da administração de CFS).

3.9. Avaliação do percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas (microscópicas) das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses da associação (mesna + dexametasona) ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

O total de 18 ratos tratados com 1 dose de mesna imediatamente antes da administração de ifosfamida (IFS) e 2 doses de mesna 4 e 8 horas depois, mostrou 38,89% de alterações macroscópicas para edema e para hemorragia; e ainda mostrou 33,3% de alterações microscópicas nas bexigas dos animais tratados com IFS e 3 doses de mesna. O tratamento com 1 dose de mesna imediatamente antes da administração da IFS, e 2 doses de dexametasona 4 e 8 horas depois, mostrou 22,2% de alterações macroscópicas para edema e para hemorragia, e mostrou 16,67% de alterações microscópicas nos 18 ratos avaliados. O tratamento com 1 dose de mesna imediatamente antes da administração da IFS, e 2 doses da associação (mesna + dexametasona), 2 e 6 horas depois, mostrou nenhum percentual de alterações macroscópicas para edema e para hemorragia, e nenhum percentual de alterações microscópicas nos ratos avaliados. E o tratamento com 1 dose de mesna imediatamente antes da administração da IFS, e 2 doses de salina 4 e 8 horas depois, mostrou 66,67% de alterações macroscópicas para edema e para hemorragia, e 55,55% de alterações microscópicas nas bexigas dos 18 ratos avaliados, como pode ser observado na Tabela 9.

TABELA 9 - Percentual de alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de 18 ratos tratados com 3 doses de mesna ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de dexametasona ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses da associação (mesna + dexametasona) ou tratados com 1 dose de mesna + 2 doses de salina, na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Tratamento	% de Alterações Macroscópicas (Edema)	% de Alterações Macroscópicas (Hemorragia)	% de Alterações Microscópicas
MMM	38,89	38,89	33,3
M+D+D	22,2	22,2	16,67
M+MD+MD	0	0	0
M+S+S	66,67	66,67	55,55

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 horas depois), no grupo dos animais tratados com mesna + dexametasona (M+D+D – uma dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses de dexametasona 4 e 8 horas depois da administração da IFS; M+MD+MD – uma dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses da associação mesna+dexametasona 2 e 6 horas depois da administração da IFS) e no grupo dos animais tratados apenas com 1 dose de mesna (M+S+S – uma dose de mesna imediatamente antes da IFS e duas doses de salina 4 e 8 horas depois da administração de IFS).

3.10. Avaliação dos efeitos de Drogas Antiinflamatórias Não-Esteroidais (DAINES) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS) e ifosfamida (IFS)

3.10.1. Efeito da Indometacina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

3.10.1.1. Efeito da Indometacina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (130,39%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) (93,02% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna por indometacina [1 mg/kg, sub-cutânea (*sc*)] (90,71 e 93,02% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 21. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por indometacina, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 21.

3.10.1.2. Efeito da Indometacina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, ip) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 10. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por indometacina (1 mg/kg, sc) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses de indometacina após 1 dose de mesna ocorre uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 10. Por outro lado o uso de 3 doses de indometacina substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 10.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 22 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 22 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 22 E) por indometacina na cistite hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos

com três doses de Mesna (Figura 22 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de indometacina (Figura 22 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 10.

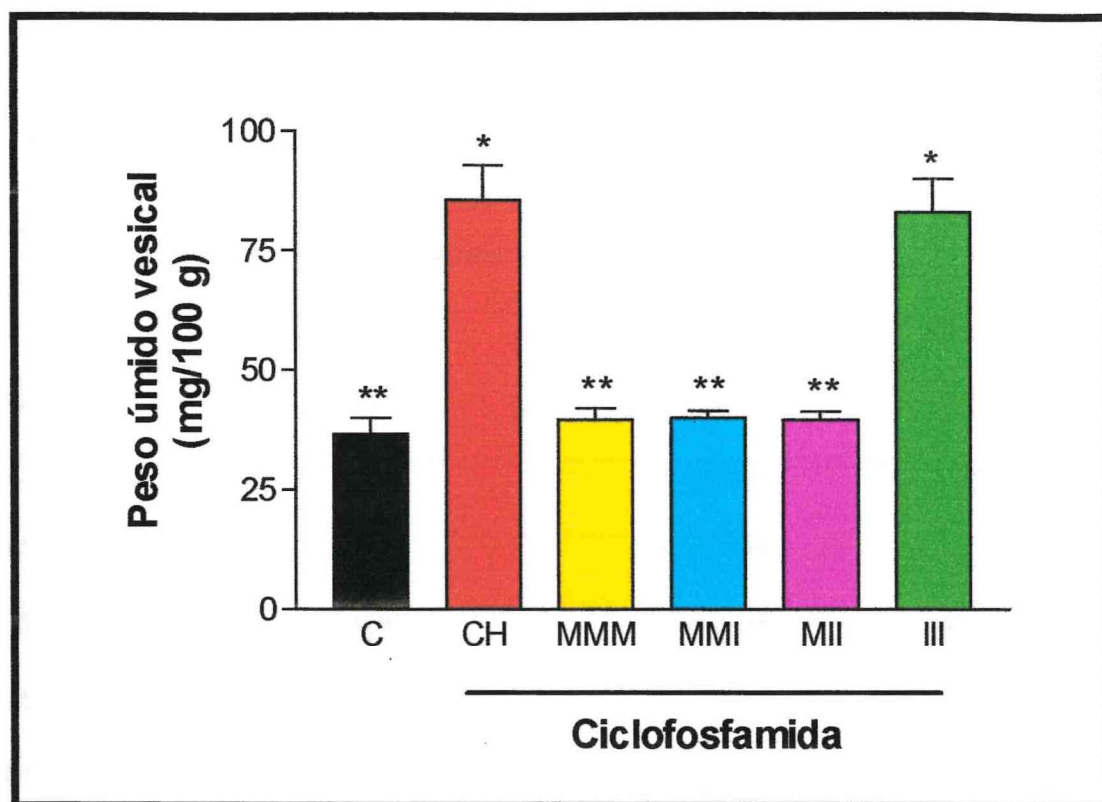


FIGURA 21. Efeitos dos diferentes tratamentos com indometacina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + indometacina (MMI – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de indometacina 8 h depois; MII – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de indometacina 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com indometacina (III – 3 doses de indometacina, uma 30 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

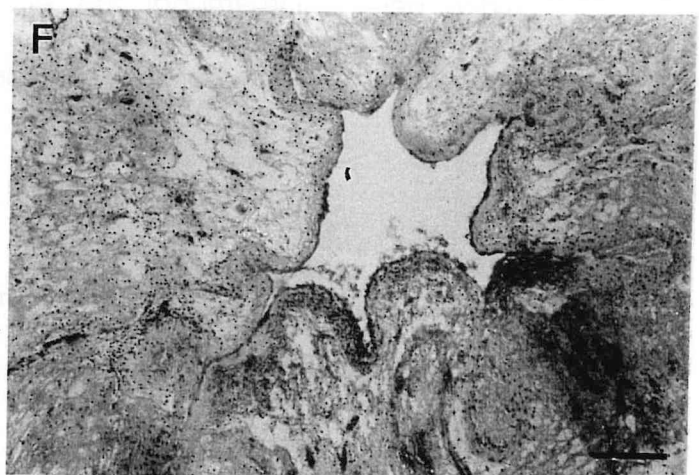
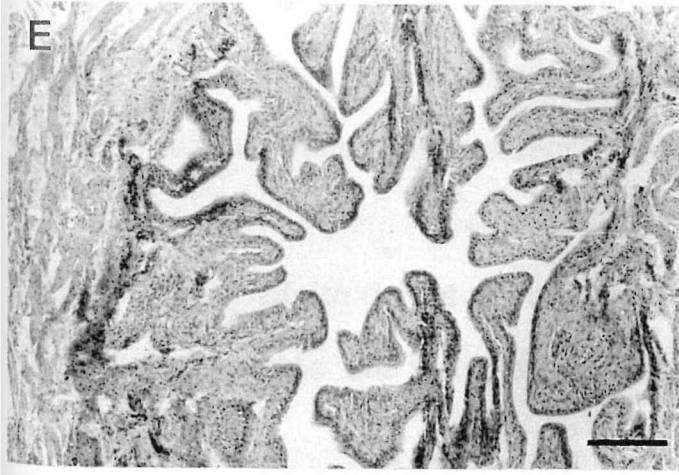
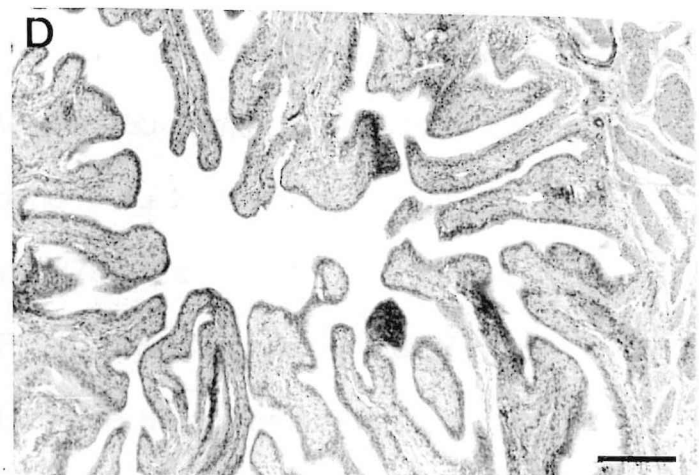
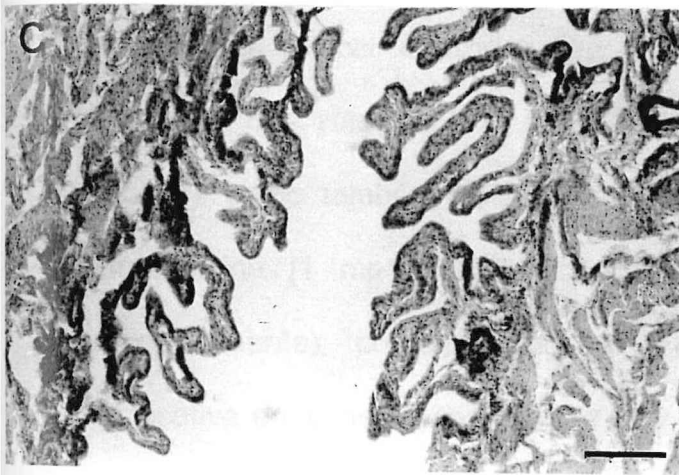
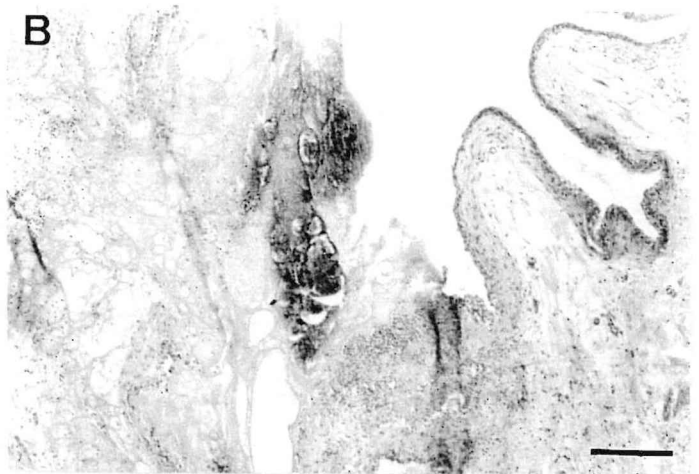
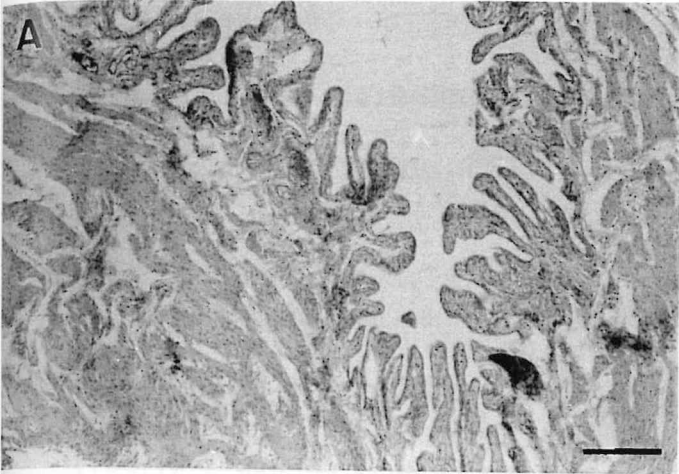
TABELA 10 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da indometacina (sc) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMI	0 (0-1)**	0 (0-0)**	0 (0-1)**
MII	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
III	3 (2-3)*	3 (3-3)*	2 (2-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratados apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + indometacina (MMI– 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de indometacina 8 h depois; MII – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de indometacina 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com indometacina (III – 3 doses de indometacina, uma 30 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 22

FIGURA 22. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da indometacina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose de indometacina (1 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de indometacina (1 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de indometacina (1mg/kg, *sc*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.10.2. Efeito da Indometacina na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.10.2.1. Efeito da Indometacina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (133,40%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) (75,02% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna por indometacina [1 mg/kg, sub-cutânea (*sc*)] (79,56 e 84,1% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 23. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por indometacina, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 23.

3.10.2.2. Efeito da Indometacina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com

hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (3 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 11. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por indometacina (1 mg/kg, *sc*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses de indometacina após 1 dose de mesna quase ocorre ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 11. Por outro lado o uso de 3 doses de indometacina substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 11.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 24 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 24 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 24 E) por indometacina na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 24 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de indometacina (Figura 24 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 11.

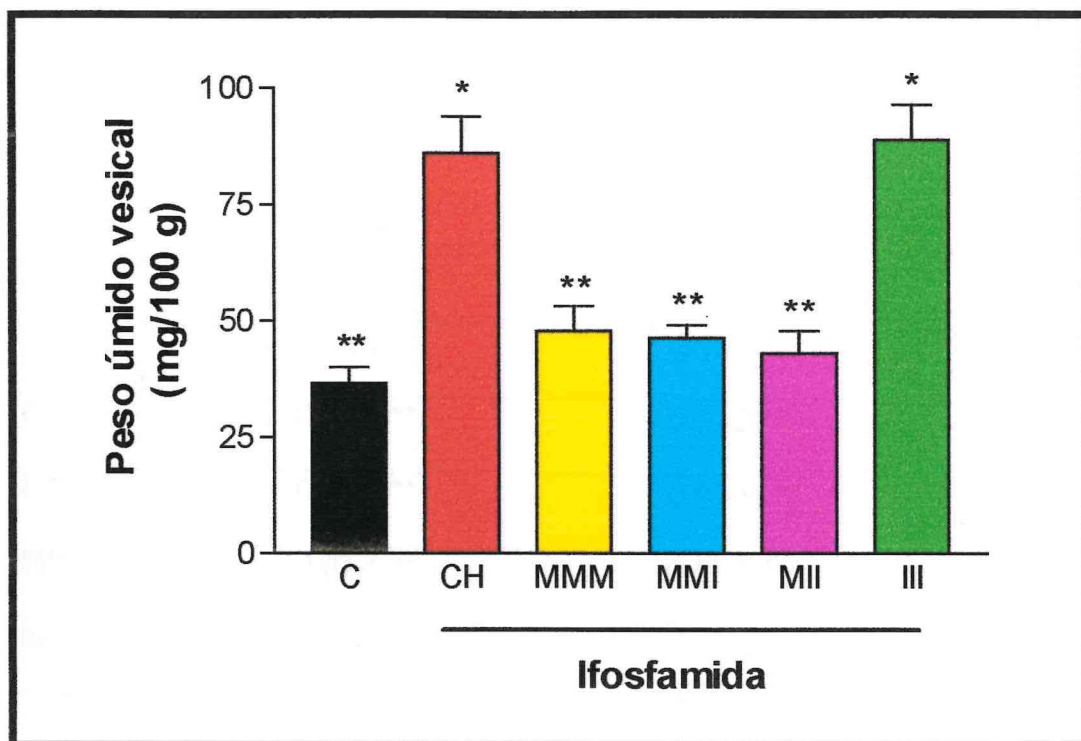


FIGURA 23. Efeitos dos diferentes tratamentos com indometacina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + indometacina (MMI – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de indometacina 8 h depois; MII – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de indometacina 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com indometacina (III – 3 doses de indometacina, uma 30 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

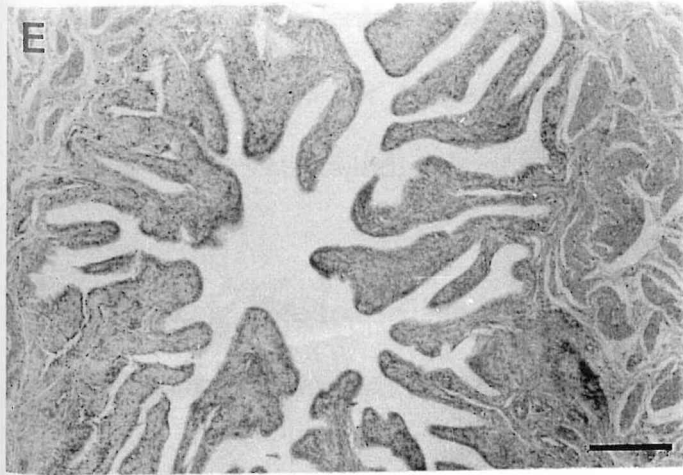
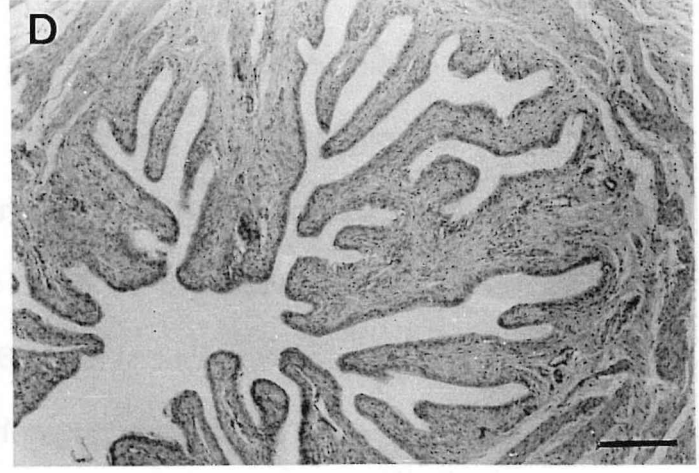
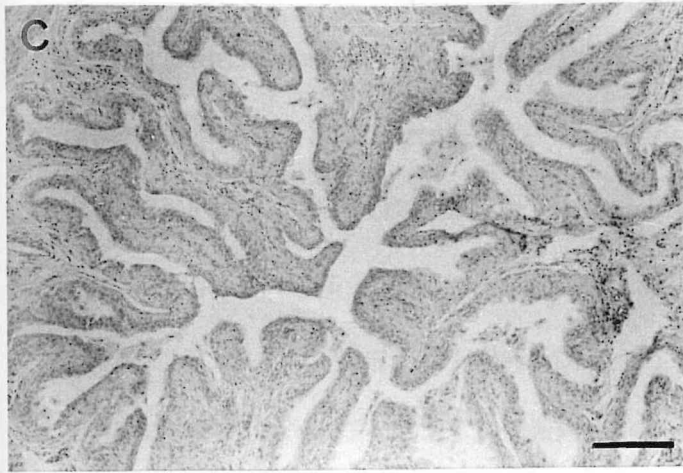
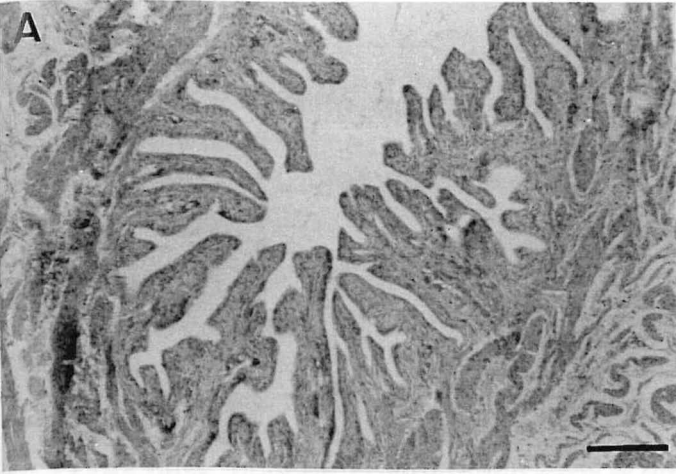
TABELA 11 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da indometacina (sc) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (3-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-2)**	0 (0-2)**	0 (0-2)**
MMI	0 (0-2)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MII	0 (0-1)**	0 (0-0)**	0 (0-1)**
III	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + indometacina (MMI – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de indometacina 8 h depois; MII – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de indometacina 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com indometacina (III – 3 doses de indometacina, uma 30 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 24

FIGURA 24. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da indometacina na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose de indometacina (1 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de indometacina (1 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de indometacina (1mg/kg, *sc*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 μ m.



3.10.3. Efeito do Meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

3.10.3.1. Efeito do Meloxicam no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (183,58%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (40 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (80 mg/kg) (95,46% de redução), como também pela substituição de 2ª ou 3ª doses de Mesna por meloxicam (1,5 mg/kg, vo) (86,35 e 86,38% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 25. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por meloxicam, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 25.

3.10.3.2. Efeito do Meloxicam sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com

hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (40 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses por via oral (80 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 12. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna por meloxicam (1,5 mg/kg, vo) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administrava 2 doses de meloxicam após 1 de mesna ocorria uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 12. Por outro lado, o uso de 3 doses de meloxicam substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 12.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 26 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 26 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 26 E) por meloxicam na cistite hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 26 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de meloxicam (Figura 26 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 12.

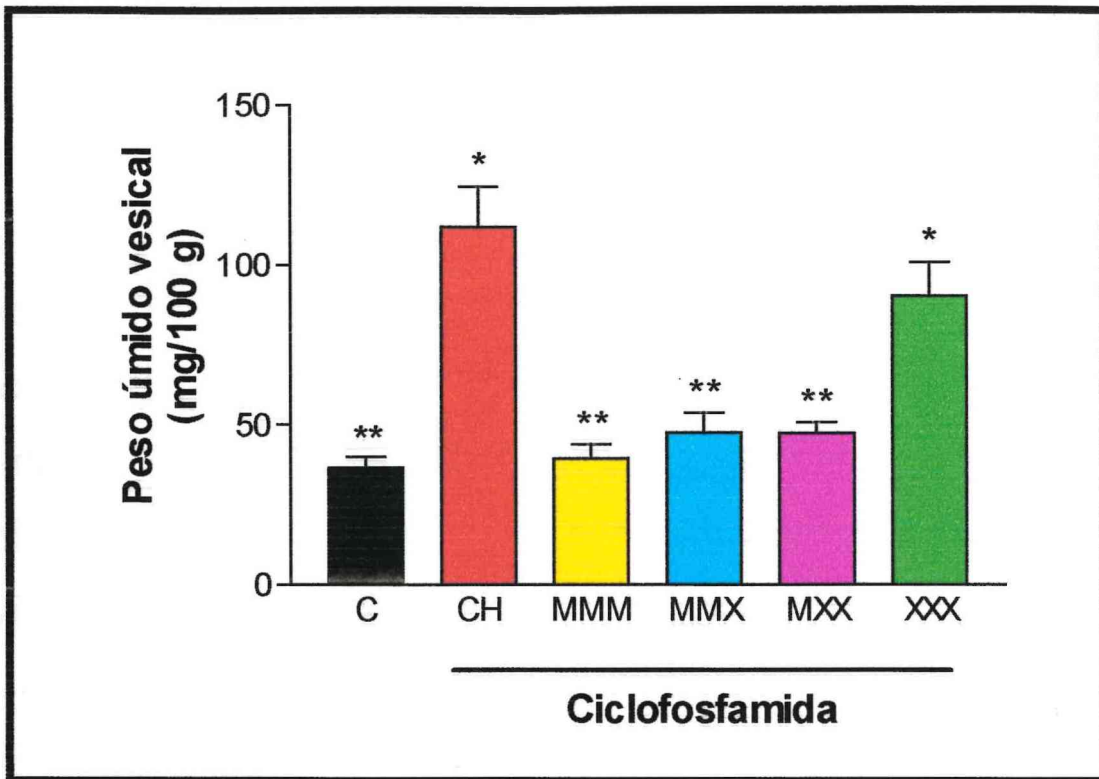


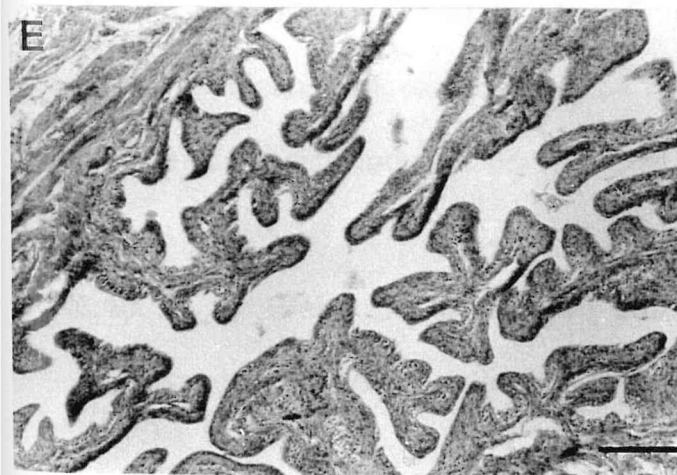
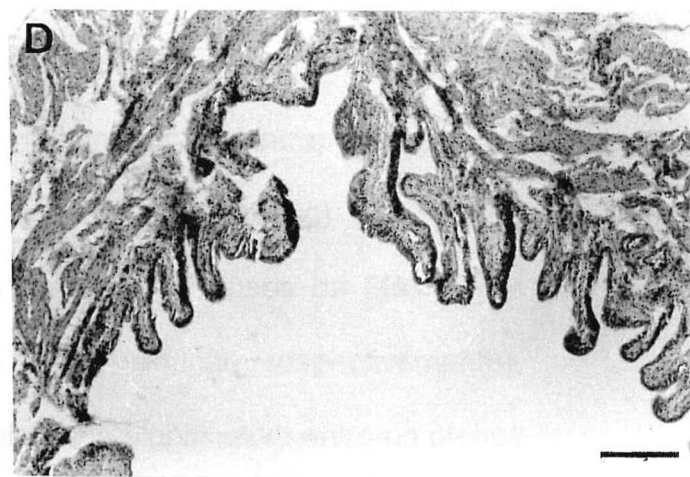
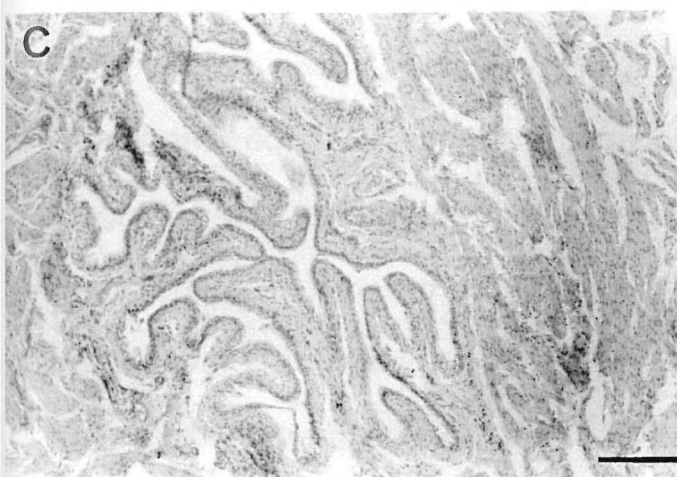
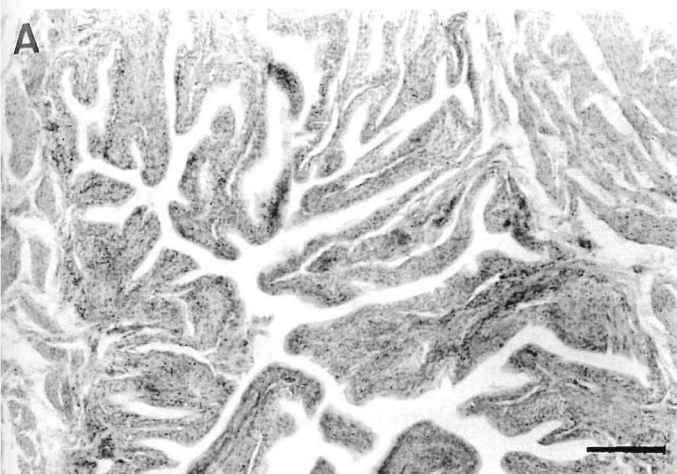
FIGURA 25. Efeitos dos diferentes tratamentos com meloxicam (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 2 e 6 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + meloxicam (MMX – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 2 h depois e 1 dose de meloxicam 6 h depois; MXX – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de meloxicam 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com meloxicam (XXX – 3 doses de meloxicam, uma 1 h antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 12 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do meloxicam (vo) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMX	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MXX	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
XXX	2,5 (1-3)*	2,5 (2-3)*	2 (2-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + meloxicam (MMX – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 2 h depois e 1 dose de meloxicam 6 h depois; MXX – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de meloxicam 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com meloxicam (XXX – 3 doses de meloxicam, uma 1 h antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 26. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ciclofosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ciclofosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ciclofosfamida, *ip*, e a 2ª dose = 40% da dose de ciclofosfamida, *vo*) e 1 dose de meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*) e 2 doses de meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.10.4. Avaliação dos efeitos do Meloxicam na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.10.4.1. Efeito do Meloxicam no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (136,45%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (160 mg/kg) (80,01% de redução), como também pela substituição de 2ª ou 3ª doses de Mesna por meloxicam (1,5 mg/kg, vo) (75,52 e 73,31% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 27. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por meloxicam, não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por IFS, que pode ser observado na Figura 27.

3.10.4.2. Efeito do Meloxicam sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com

hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses por via oral (160 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 13. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna por meloxicam (1,5 mg/kg, vo) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administrava 2 doses de meloxicam após 1 de mesna ocorria uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 13. Por outro lado, o uso de 3 doses de meloxicam substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 13.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 28 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 28 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 28 E) por meloxicam na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 28 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de meloxicam (Figura 28 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 13.

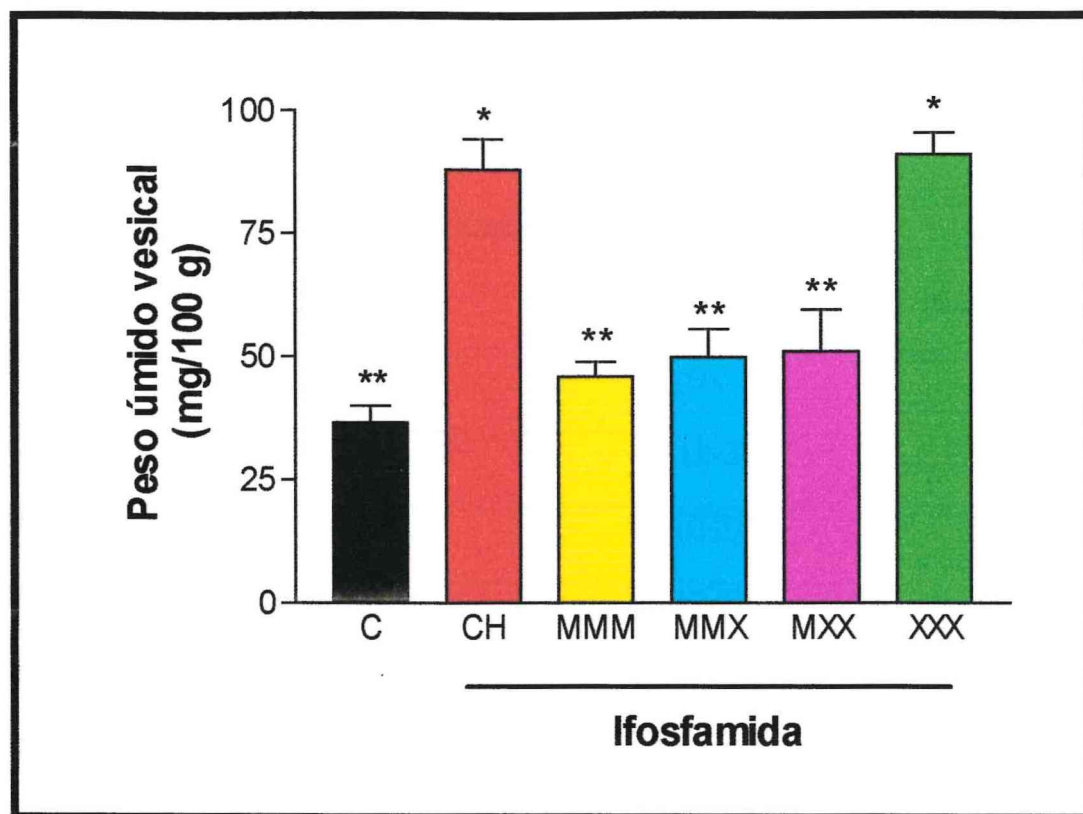


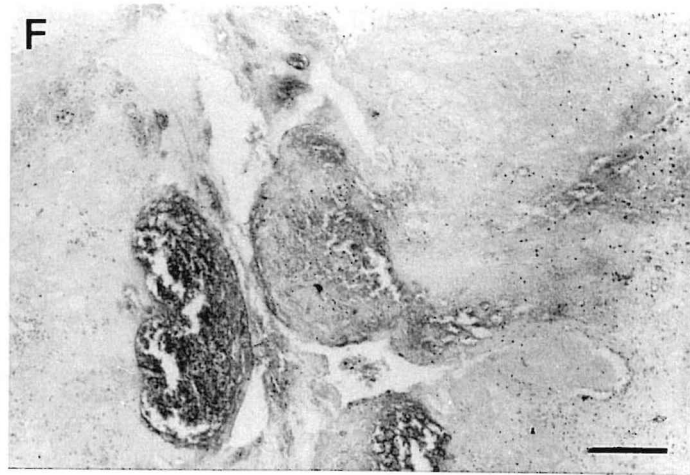
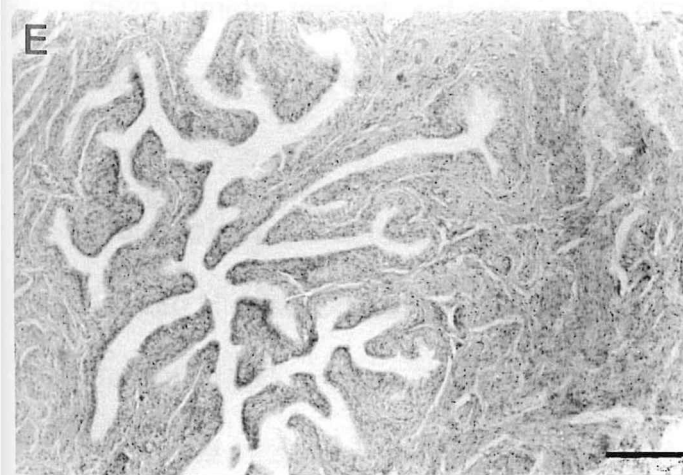
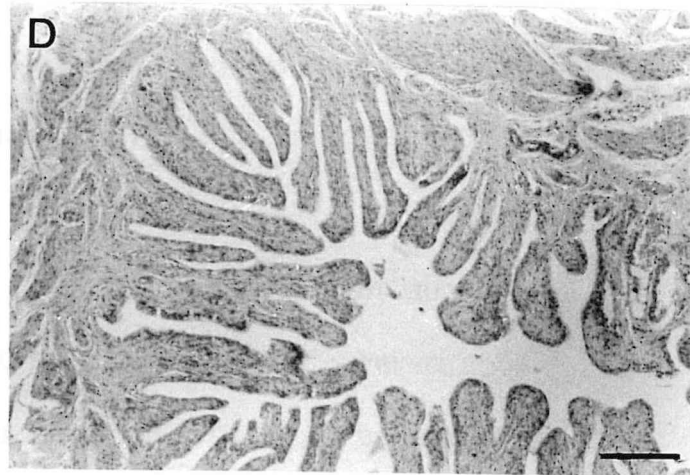
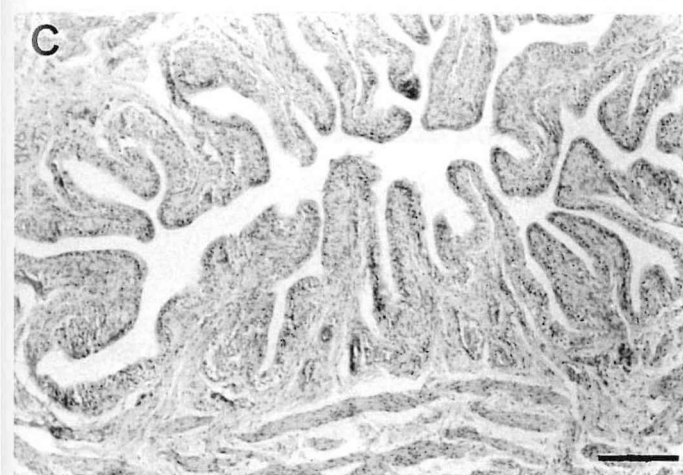
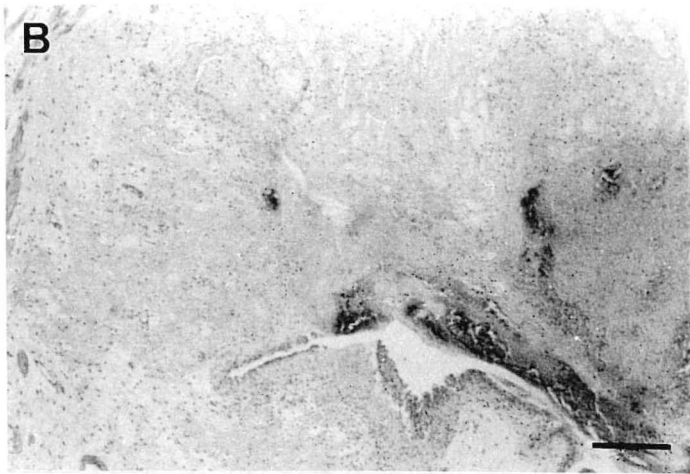
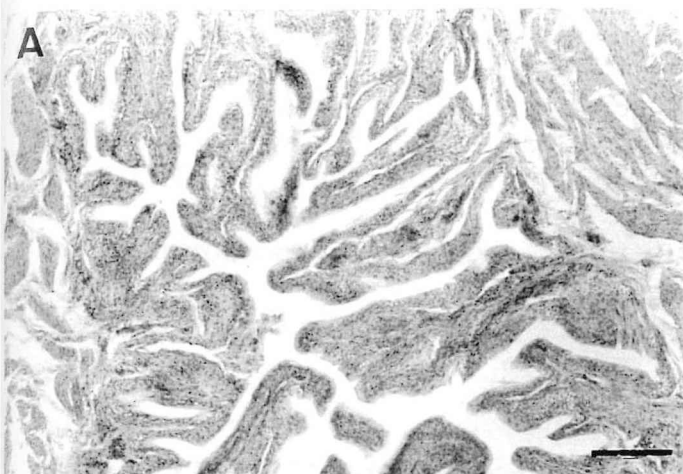
FIGURA 27. Efeitos dos diferentes tratamentos com meloxicam (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + meloxicam (MMX – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 2 h depois e 1 dose de meloxicam 6 h depois; MXX – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de meloxicam 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com meloxicam (XXX – 3 doses de meloxicam, uma 1 h antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 13 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do meloxicam (vo) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-2)**	0 (0-2)**	0 (0-1)**
MMX	0 (0-1)**	0 (0-2)**	0 (0-2)**
MXX	0,5 (0-2)**	0,5 (0-2)**	0,5 (0-2)**
XXX	3 (2-3)*	3 (3-3)*	2 (2-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + meloxicam (MMX – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 2 h depois e 1 dose de meloxicam 6 h depois; MXX – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de meloxicam 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com meloxicam (XXX – 3 doses de meloxicam, uma 1 h antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 28. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ifosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª dose = 40% da dose de ifosfamida, *vo*) e 1 dose de meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*) e 2 doses de meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de meloxicam (1,5 mg/kg, *vo*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.11. Avaliação dos efeitos de Produtos Naturais, com atividade antiinflamatória cientificamente comprovada, na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS) e ifosfamida (IFS)

3.11.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

3.11.1.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (166,92%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (40 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (80 mg/kg) (85,02% de redução), como também pela substituição de 2ª ou 3ª doses de Mesna por Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) (400 mg/kg, vo) (84,99 e 92,52% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 29. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon*

urundeuva Fr All. (Aroeira do Sertão), não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 29.

3.11.1.2. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (40 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses por via oral (80 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 14. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna pelo Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) (400 mg/kg, *vo*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administrava 2 doses do Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) após 1 de mesna ocorria uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 14. Por outro lado, o uso de 3 doses do Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon*

urundeuva Fr. All. (Aroeira do Sertão) substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 14.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 30 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 30 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 30 E) por Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 30 C), mas não com àqueles obtidos com três doses do Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) (Figura 30 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 14.

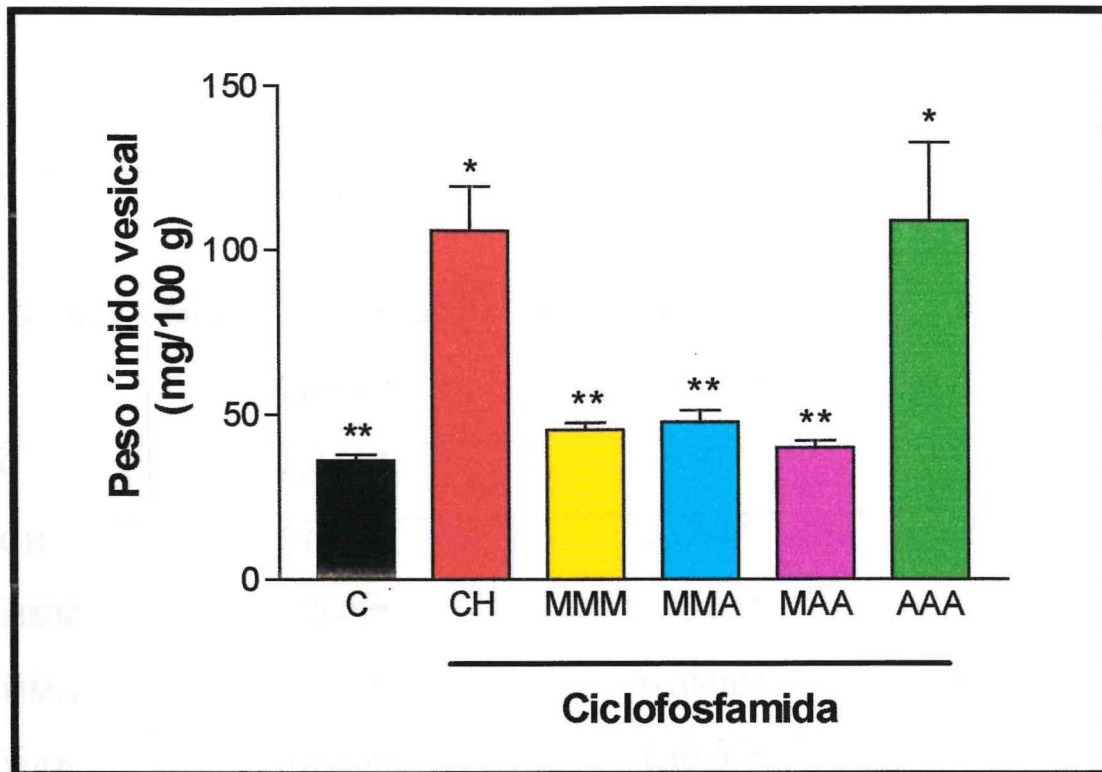


FIGURA 29. Efeitos dos diferentes tratamentos com o extrato hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 2 e 6 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + aroeira (MMA – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 2 h depois e 1 dose de aroeira 6 h depois; MAA – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de aroeira 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com aroeira (AAA – 3 doses de aroeira, uma 1 h antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

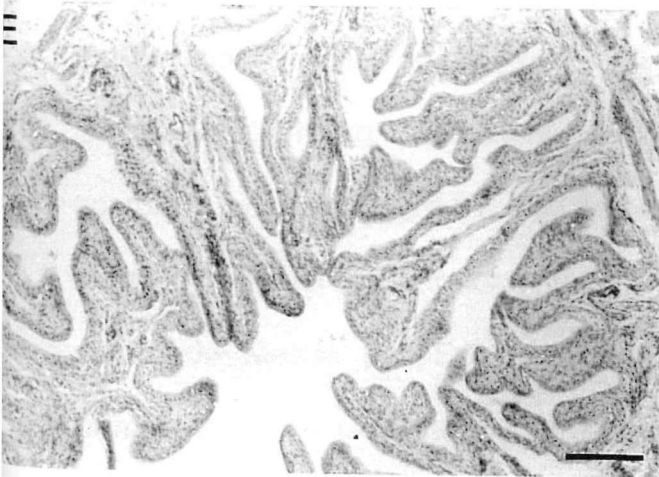
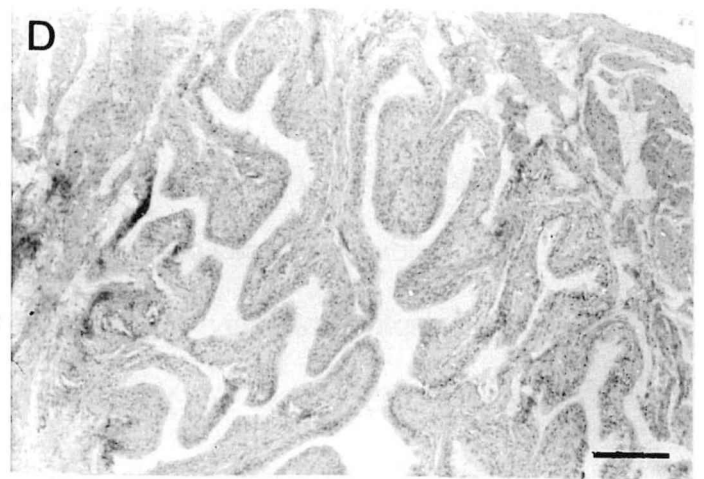
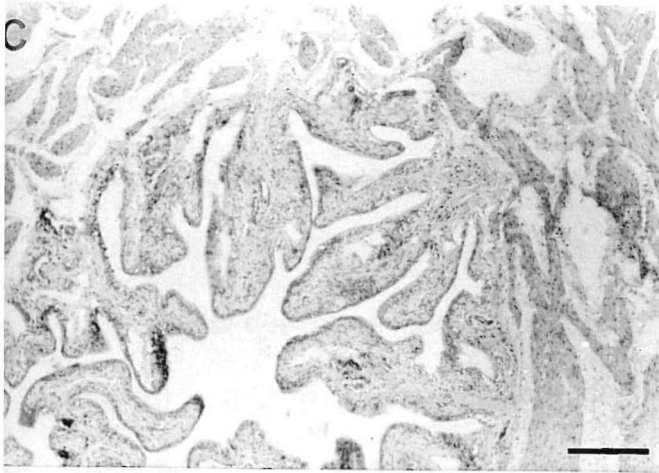
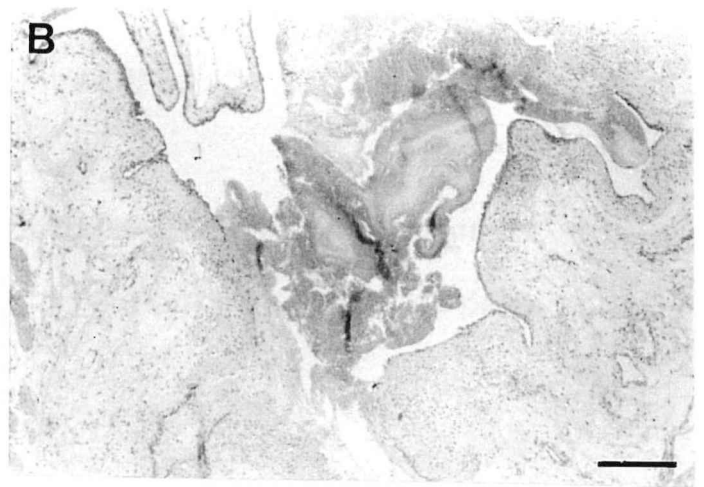
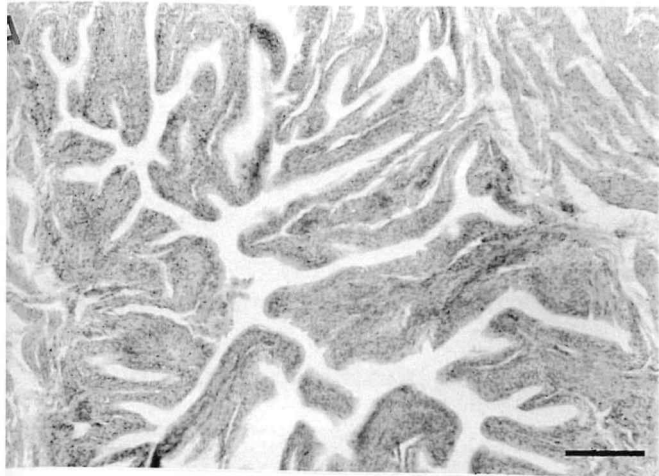
TABELA 14 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do extrato hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) (vo) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMA	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MAA	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
AAA	2,5 (1-3)*	3 (3-3)*	2 (2-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + aroeira (MMA – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 2 h depois e 1 dose de aroeira 6 h depois; MAA – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de aroeira 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com aroeira (AAA – 3 doses de aroeira, uma 1 h antes da CFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 30

FIGURA 30. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ciclofosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ciclofosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ciclofosfamida, *ip*, e a 2ª dose = 40% da dose de ciclofosfamida, *vo*) e 1 dose do extrato hidroalcoólico da casca de aroeira do sertão (400 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*) e 2 doses do extrato hidroalcoólico da casca de aroeira do sertão (400 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses do extrato hidroalcoólico da casca de aroeira do sertão (400 mg/kg, *vo*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.11.2. Avaliação dos efeitos do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.11.2.1. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (142,50%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com a 1ª dose de mesna por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses de mesna por via oral (160 mg/kg) (85,11% de redução), como também pela substituição de 2ª ou 3ª doses de Mesna por Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) (400 mg/kg, vo) (89,36 e 76,56% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 31. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão), não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por IFS, que pode ser observado na Figura 31.

3.11.2.2. Efeito do Extrato Hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de mesna, sendo a 1ª dose por via intraperitoneal (80 mg/kg) + a 2ª e 3ª doses por via oral (160 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 15. A substituição da 2ª ou 3ª doses de mesna pelo Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) (400 mg/kg, vo) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administrava 2 doses do Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) após 1 dose de mesna quase ocorria ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 15. Por outro lado, o uso de 3 doses do Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 15.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão e mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 2 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 Figura 32 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 32 E) por Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 32 C), mas não com àqueles obtidos com três doses do Extrato Hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr All. (Aroeira do Sertão) (Figura 32 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 15.

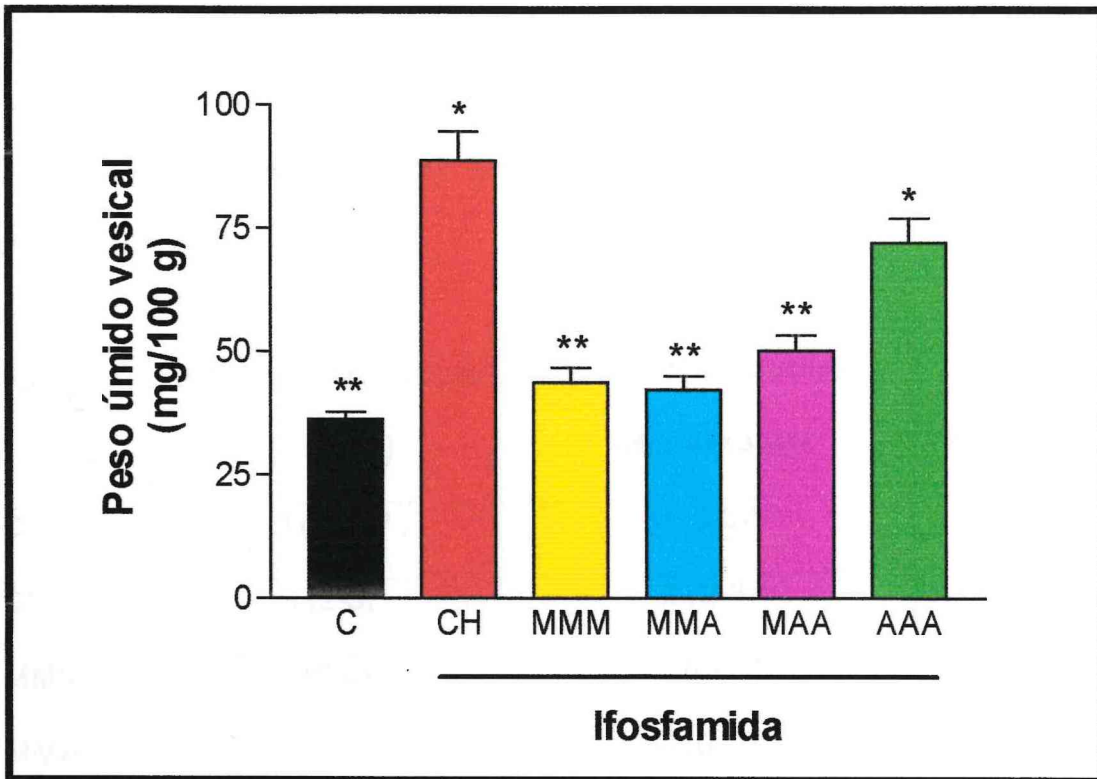


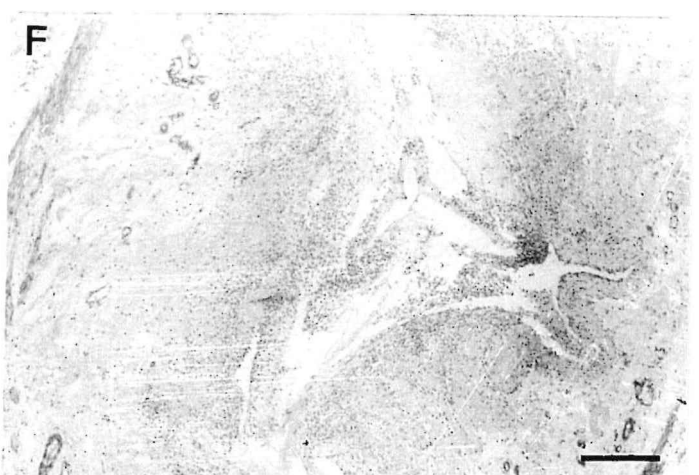
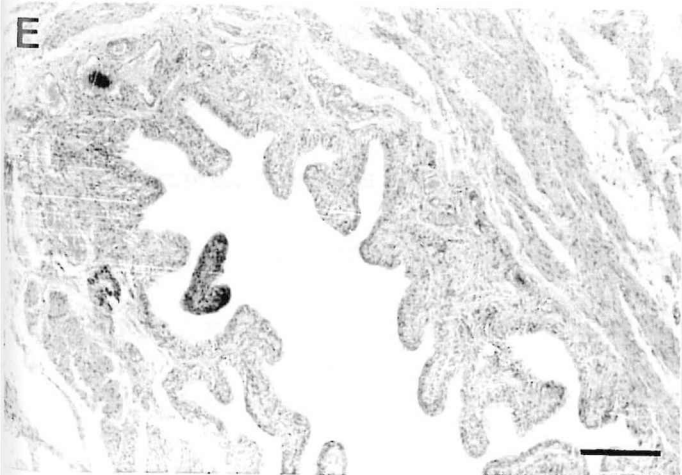
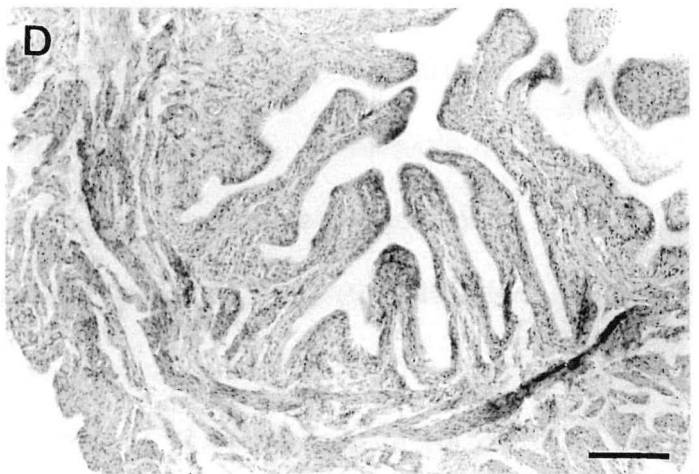
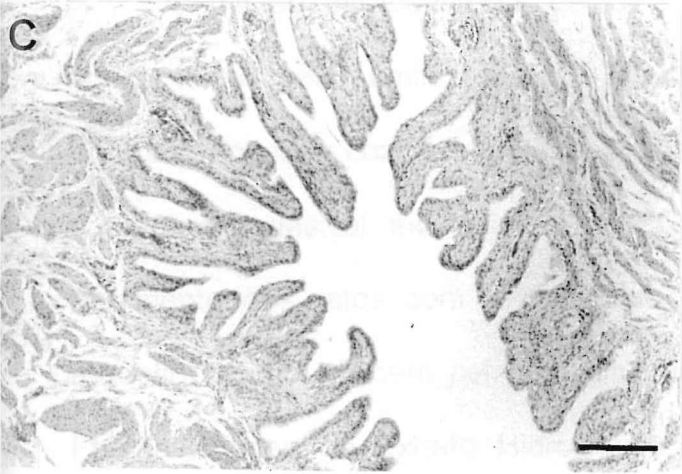
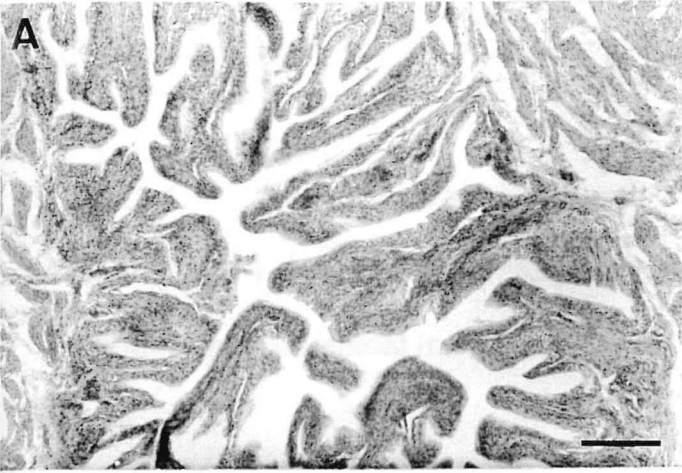
FIGURA 31. Efeitos dos diferentes tratamentos com o extrato hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) (vo) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + aroeira (MMA – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 2 h depois e 1 dose de aroeira 6 h depois; MAA – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de aroeira 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com aroeira (AAA – 3 doses de aroeira, uma 1 h antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 15 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos do extrato hidroalcoólico (20% de etanol) da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) (vo) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-1)**	0 (0-0)**
MMA	0 (0-1)**	0 (0-0)**	0 (0-1)**
MAA	0 (0-1)**	0,5 (0-2)**	0,5 (0-1)**
AAA	2 (1-3)*	2,5 (2-3)*	2 (1-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + aroeira (MMA – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 2 h depois e 1 dose de aroeira 6 h depois; MAA – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de aroeira 2 e 6 h depois) e no grupo dos animais tratados com aroeira (AAA – 3 doses de aroeira, uma 1 h antes da IFS e as outras 2 e 6 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 32. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos do extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª e 3ª doses = 40% da dose de ifosfamida, *vo*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna (sendo a 1ª dose = 20% da dose de ifosfamida, *ip*, e a 2ª dose = 40% da dose de ifosfamida, *vo*) e 1 dose do extrato hidroalcoólico da casca de aroeira do sertão (400 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*) e 2 doses do extrato hidroalcoólico da casca de aroeira do sertão (400 mg/kg, *vo*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses do extrato hidroalcoólico da casca de aroeira do sertão (400 mg/kg, *vo*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.11.3. Avaliação do efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS)

3.11.3.1. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (200,23%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) (92,29% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*) (92,32 e 92,29% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 33. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 33.

3.11.3.2. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 -3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, ip) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 16. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, ip) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), após 1 dose de mesna ocorre uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 16. Por outro lado o uso de 3 doses da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 16.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva

erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (1 - 2), como mostrado na Figura 34 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 34 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 34 E) pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na cistite hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 34 C), mas não com àqueles obtidos com três doses da Fração Aquosa do Extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (Figura 34 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 16.

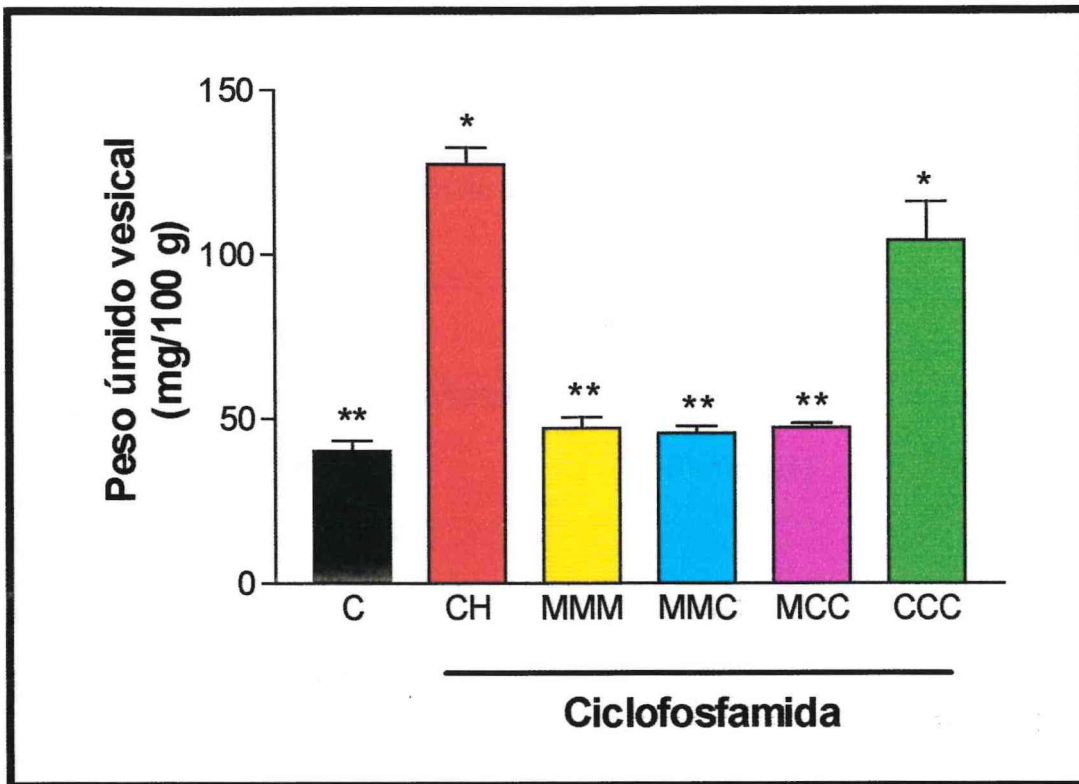


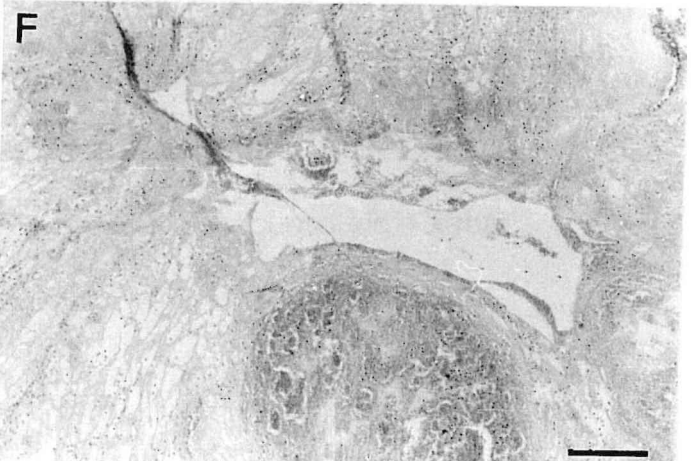
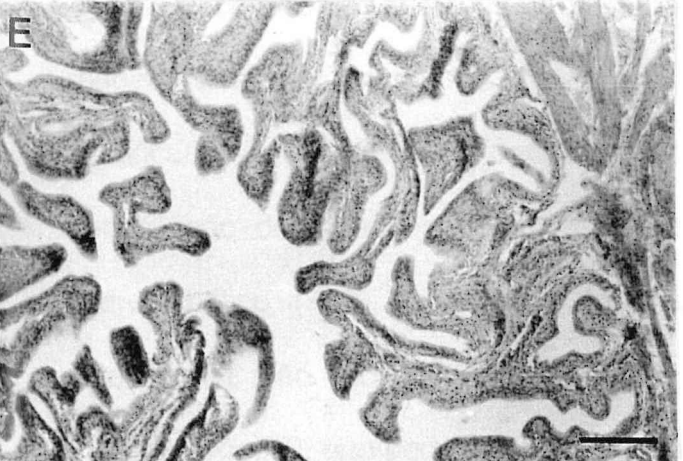
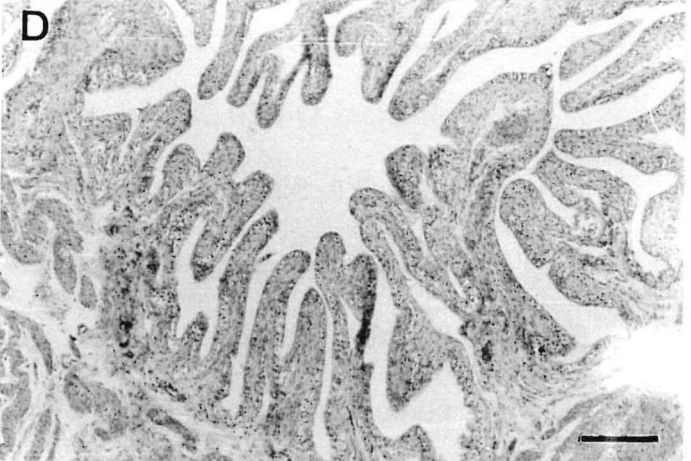
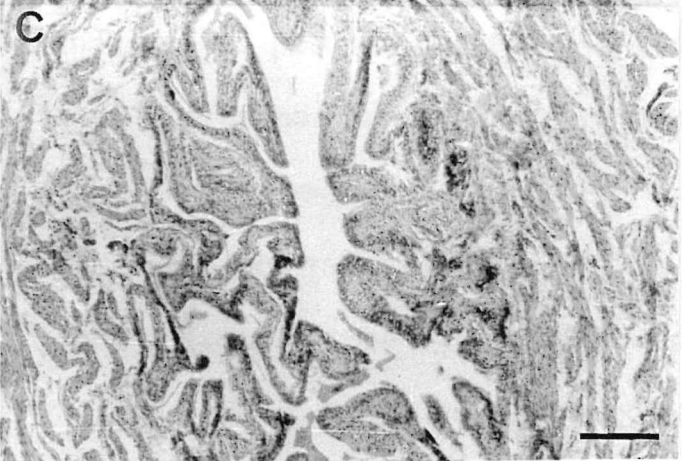
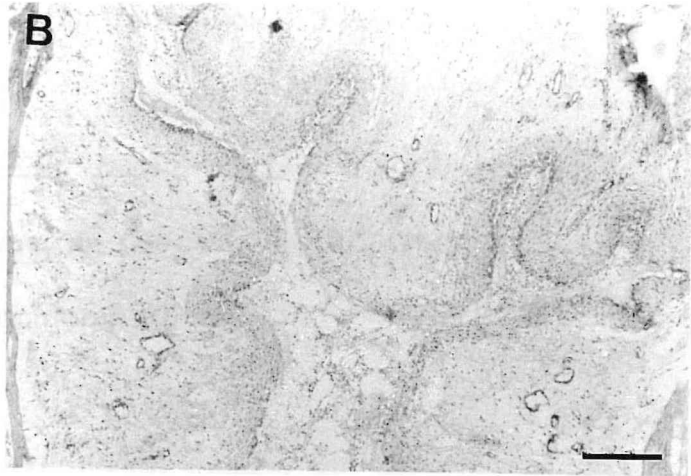
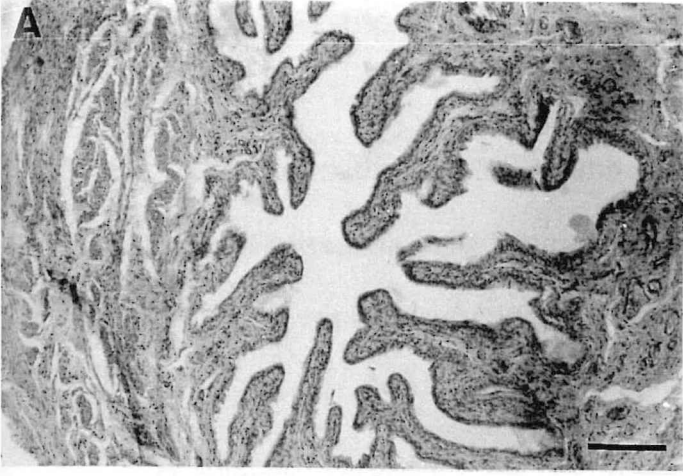
FIGURA 33. Efeitos dos diferentes tratamentos com a fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (*ip*), no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + mentrasto (MMC – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de mentrasto 8 h depois; MCC – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de mentrasto 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com mentrasto (CCC – 3 doses de mentrasto, uma 30 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 16 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (*ip*), na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMC	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MCC	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CCC	2,5 (1-3)*	2 (2-3)*	2 (1-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + mentrasto (MMC – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de mentrasto 8 h depois; MCC – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de mentrasto 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com mentrasto (CCC – 3 doses de mentrasto, uma 30 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina)) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 34. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.11.4. Avaliação do efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.11.4.1. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (110,90%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) (78,0% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*) (78,0 e 68,26% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 35. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por IFS, que pode ser observado na Figura 35.

3.11.4.2. Efeito da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, ip) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 3 (2 - 3), e por marcante hemorragia, com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 3 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, ip) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 17. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, ip), também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) após 1 dose de mesna, quase ocorre ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 17. Por outro lado o uso de 3 doses da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 17.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva

erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (1 - 2), como mostrado na Figura 36 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 36 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 36 E) pela Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 36 C), mas não com àqueles obtidos com três doses da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico (70% de etanol) das Folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (Figura 36 F). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 17.

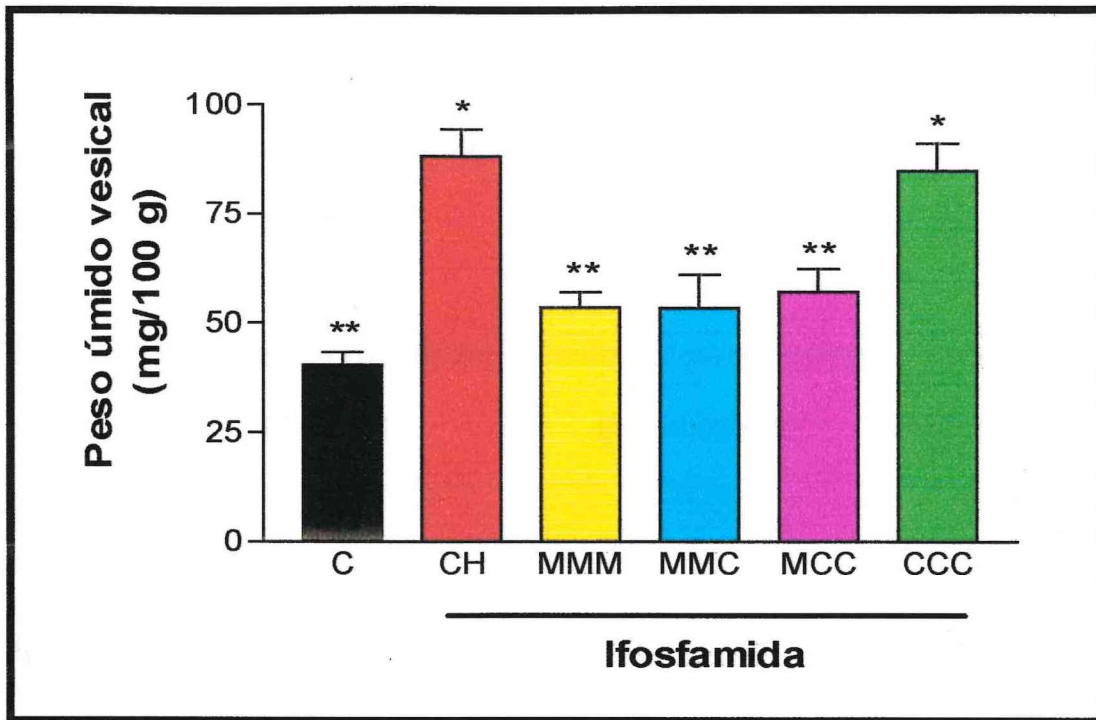


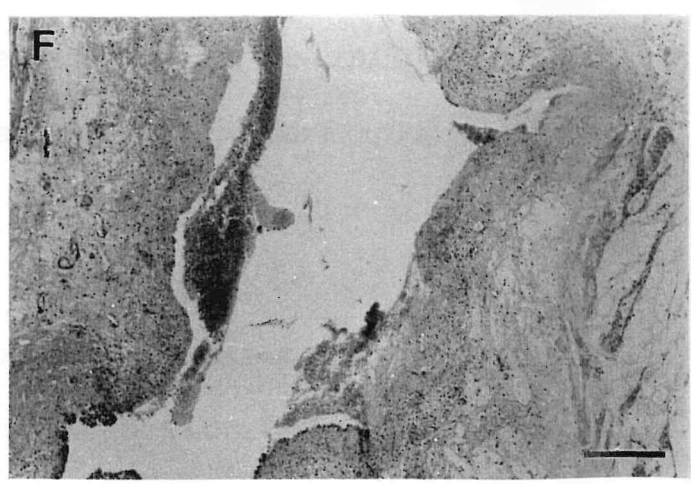
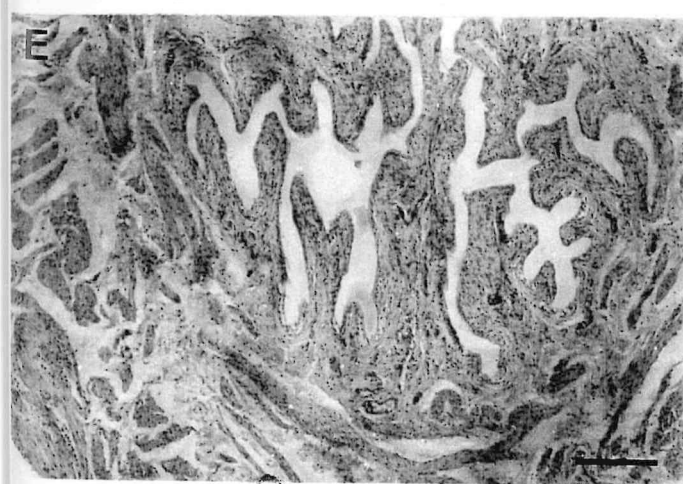
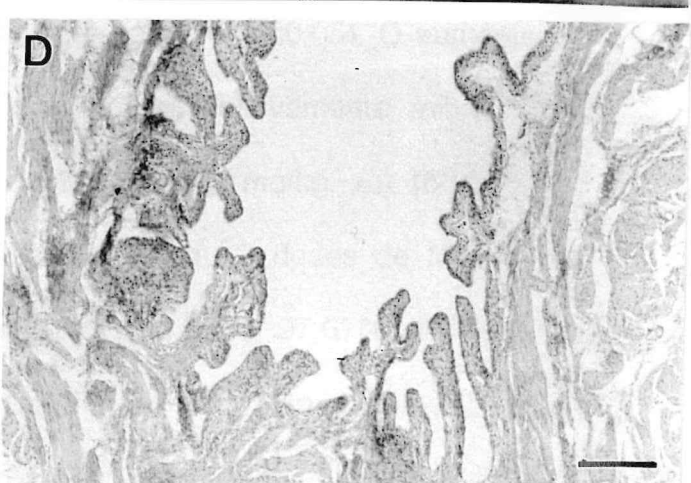
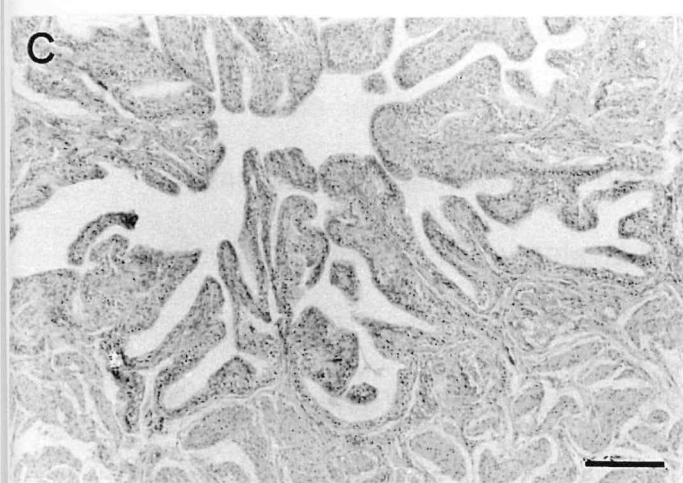
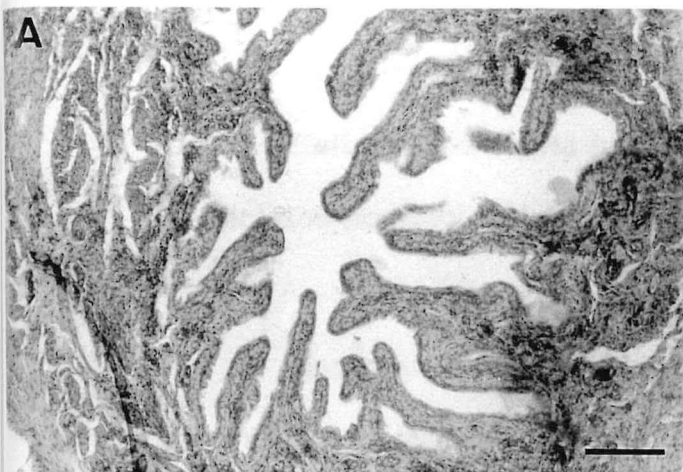
FIGURA 35. Efeitos dos diferentes tratamentos com a fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (*ip*), no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + mentrasto (MMC – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de mentrasto 8 h depois; MCC – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de mentrasto 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com mentrasto (CCC – 3 doses de mentrasto, uma 30 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

TABELA 17 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da fração aquosa do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (*ip*), na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
CH	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
MMM	0 (0-2)**	0,5 (0-2)**	1 (0-2)**
MMC	0 (0-2)**	0 (0-2)**	0 (0-1)**
MCC	0,5 (0-2)**	0,5 (0-2)**	0,5 (0-2)**
CCC	2,5 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + mentrasto (MMC – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de mentrasto 8 h depois; MCC – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de mentrasto 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais tratados com mentrasto (CCC – 3 doses de mentrasto, uma 30 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 36. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses da fração solúvel em água do extrato hidroalcoólico (70% de etanol) das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) (50 mg/kg, *ip*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. Barra, 250 µm.



3.11.5. Efeito da Ternatina na cistite hemorrágica induzida por Ciclofosfamida (CFS)

3.11.5.1. Efeito da Ternatina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ciclofosfamida (CFS)

A injeção intraperitoneal de CFS (200 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (138,79%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela CFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) (88,38% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna por Ternatina [25 mg/kg, via sub-cutânea (*sc*)] (93,02 e 97,67% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 37. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por Ternatina ou DMSO a 5% não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 37.

3.11.5.2. Efeito da Ternatina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ciclofosfamida (CFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de CFS (200 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 2,5 (2 - 3), e por marcante hemorragia,

com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 2,5 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (40 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 18. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por Ternatina (25 mg/kg, *sc*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses de Ternatina após 1 dose de mesna ocorre uma total ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 18. Por outro lado o uso de 3 doses de ternatina ou DMSO a 5%, substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 18.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de CFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 38 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 38 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 38 E) por Ternatina na cistite hemorrágica induzida por CFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 38 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de Ternatina (Figura 38 F) ou três doses de DMSO a 5% (Figura 38 G). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 18.

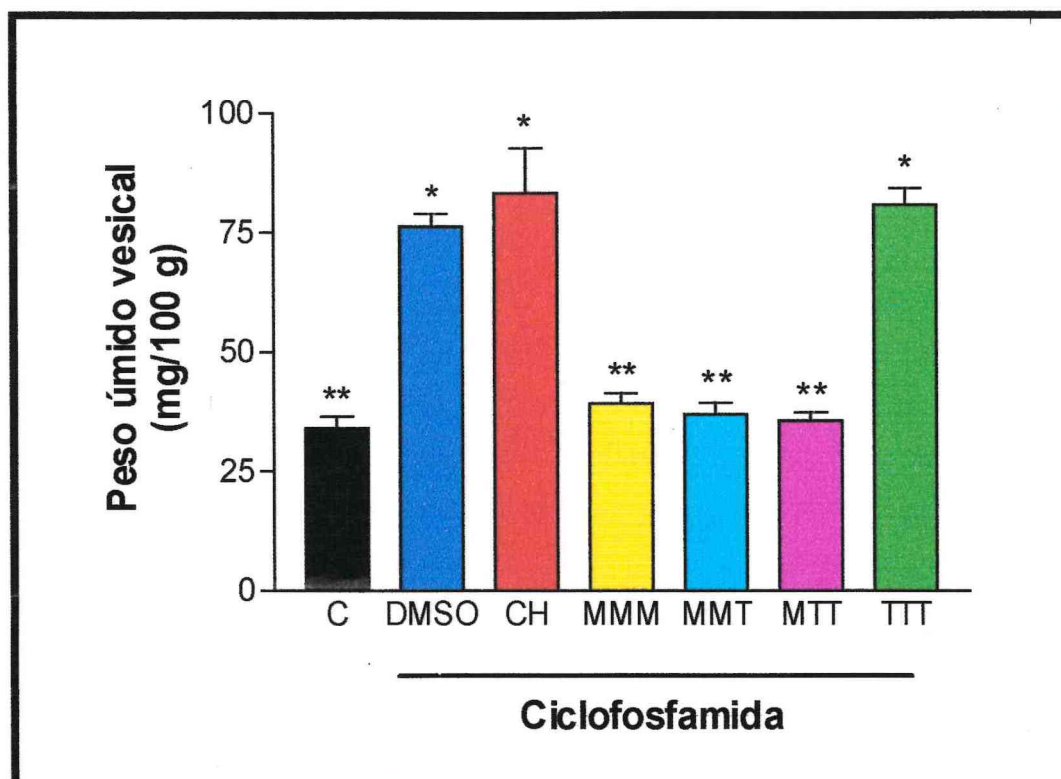


FIGURA 37. Efeitos dos diferentes tratamentos com a ternatina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS). A ciclofosfamida (200 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com CFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + ternatina (MMT – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de ternatina 8 h depois; MTT – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de ternatina 4 e 8 h depois), no grupo dos animais tratados com ternatina (TTT – 3 doses de ternatina, uma 40 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais aos quais foram administrados DMSO a 5% (DMSO – 3 doses de DMSO a 5%, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM (n = 6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas por ciclofosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

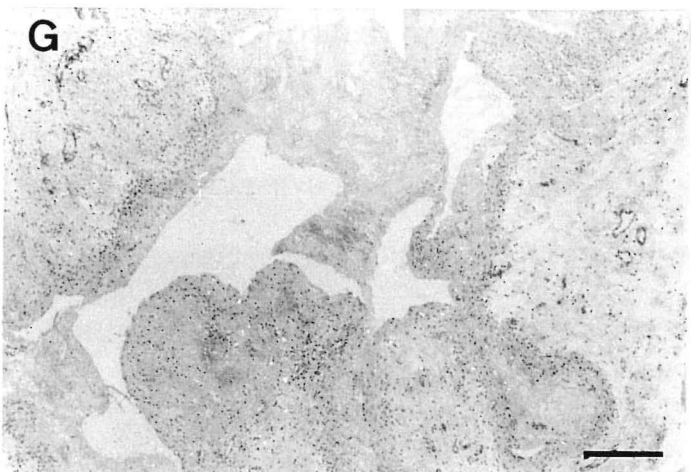
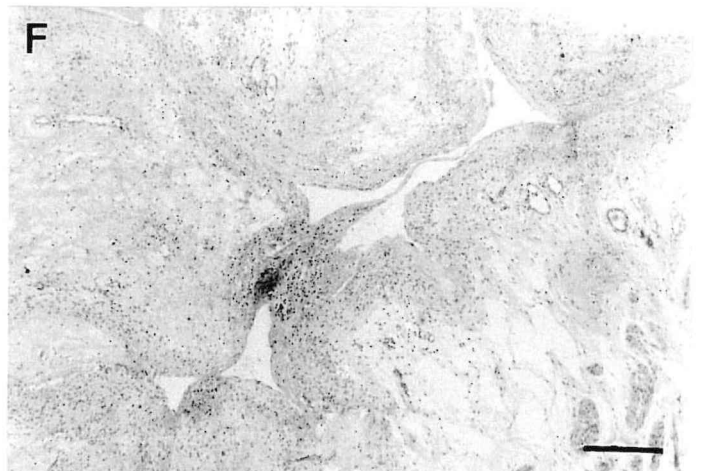
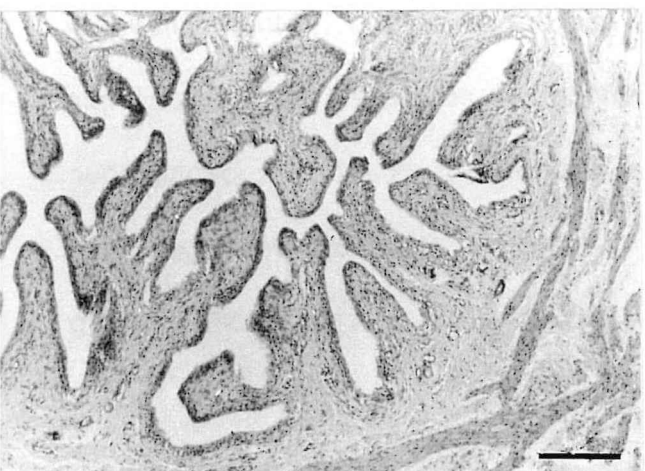
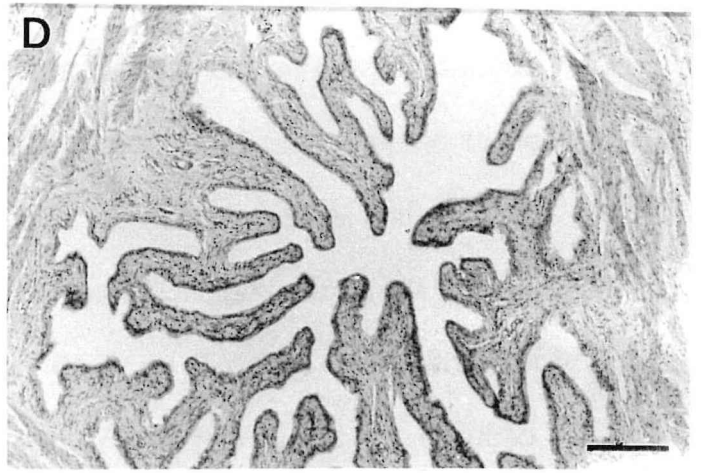
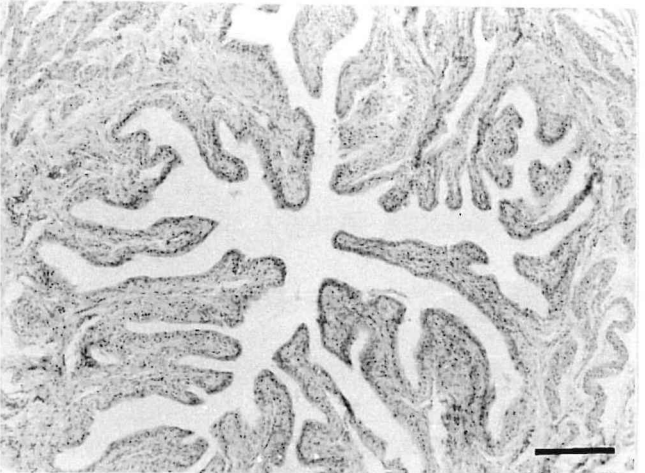
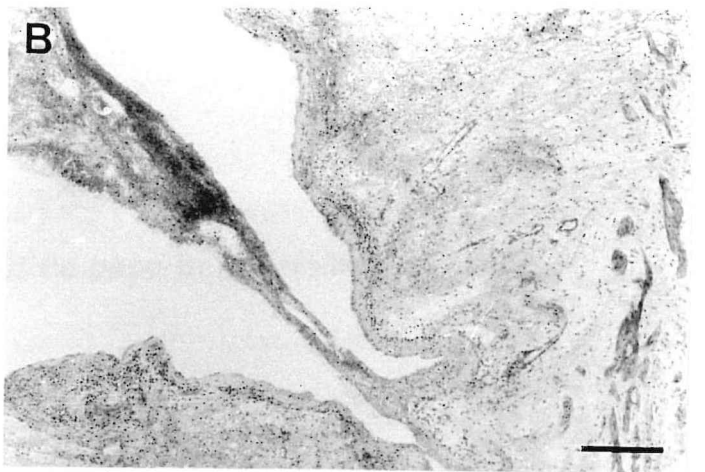
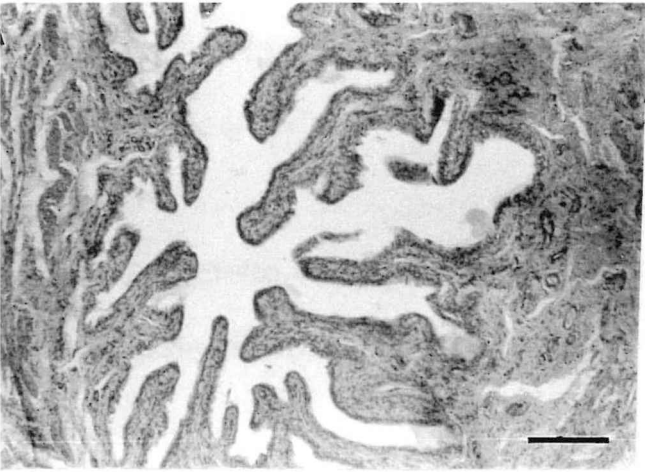
TABELA 18 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da ternatina (sc) na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (CFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
DMSO	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*
CH	2,5 (2-3)*	2,5 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
MMT	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MTT	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
TTT	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (1-2)*

A ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com CFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + ternatina (MMT– 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da CFS e a outra 4 h depois e 1 dose de ternatina 8 h depois; MTT – 1 dose de mesna imediatamente antes da CFS e 2 doses de ternatina 4 e 8 h depois), no grupo dos animais tratados com ternatina (TTT – 3 doses de ternatina, uma 40 min antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais aos quais foram administrados DMSO a 5% (DMSO – 3 doses de DMSO a 5%, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C - animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas por ciclofosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 38

FIGURA 38. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da ternatina na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ciclofosfamida (200 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ciclofosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose de ternatina (25 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de ternatina (25 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de ternatina (25 mg/kg, *sc*). **G:** Bexigas de ratos aos quais foram administradas 3 doses de DMSO a 5%. Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia. Barra, 250 μ m.



3.11.6. Efeito da Ternatina na cistite hemorrágica induzida por Ifosfamida (IFS)

3.11.6.1. Efeito da Ternatina no aumento de peso úmido vesical induzido por Ifosfamida (IFS)

A injeção intraperitoneal de IFS (400 mg/kg) induziu um aumento marcante no peso úmido vesical, 24 horas depois de sua administração (136,45%, quando comparados com o grupo controle, $p < 0,05$). O aumento de peso úmido vesical induzido pela IFS foi significativamente inibido pelo tratamento dos ratos com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) (80,01% de redução), como também pela substituição de 1 ou 2 doses de Mesna por Ternatina [25 mg/kg, via sub-cutânea (*sc*)] (75,58 e 77,81% de redução, respectivamente), conforme mostra a Figura 39. Não houve diferença significativa entre os efeitos desses três diferentes tratamentos. Entretanto, a substituição de todas as doses de Mesna por Ternatina ou DMSO a 5% não inibiu significativamente o aumento de peso úmido vesical induzido por CFS, que pode ser observado na Figura 39.

3.11.6.2. Efeito da Ternatina sobre as alterações macroscópicas e histopatológicas das bexigas de ratos tratados com Ifosfamida (IFS)

A cistite hemorrágica observada 24 horas depois da administração de IFS (400 mg/kg, *ip*) foi caracterizada macroscopicamente pela presença de severo edema, recebendo escore de 2,5 (2 - 3), e por marcante hemorragia,

com hematomas de mucosa e coágulos intravesicais, recebendo escore de 2 (2 - 3) e sendo significativamente ($p < 0,05$) diferente do grupo controle que recebeu escore de 0 (0-0) para edema e hemorragia. O tratamento com 3 doses de Mesna (80 mg/kg, *ip*) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a intensidade da cistite, como indicado pelos escores na Tabela 19. A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por Ternatina (25 mg/kg, *sc*) também inibiu significativamente a intensidade da cistite, notando-se que quando se administra 2 doses de Ternatina após 1 dose de mesna quase ocorre ausência de sinais macroscópicos e microscópicos de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 19. Por outro lado o uso de 3 doses de Ternatina ou DMSO a 5%, substituindo as 3 doses de mesna não levou a nenhuma inibição de cistite, como indicado pelos escores na Tabela 19.

De acordo com os critérios histopatológicos de Gray, 24 horas depois da administração de IFS existiu evidências histológicas de cistite: extensiva erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2 (2 - 2), como mostrado na Figura 40 B. Estas alterações foram quase abolidas ($p < 0,05$) pela substituição de 1 (Figura 40 D) ou 2 doses de Mesna (Figura 40 E) por Ternatina na cistite hemorrágica induzida por IFS, com resultados semelhantes àqueles obtidos com três doses de Mesna (Figura 40 C), mas não com àqueles obtidos com três doses de Ternatina (Figura 40 F) ou três doses de DMSO a 5% (Figura 40 G). Os escores para os parâmetros de Gray destes resultados são mostrados na Tabela 19.

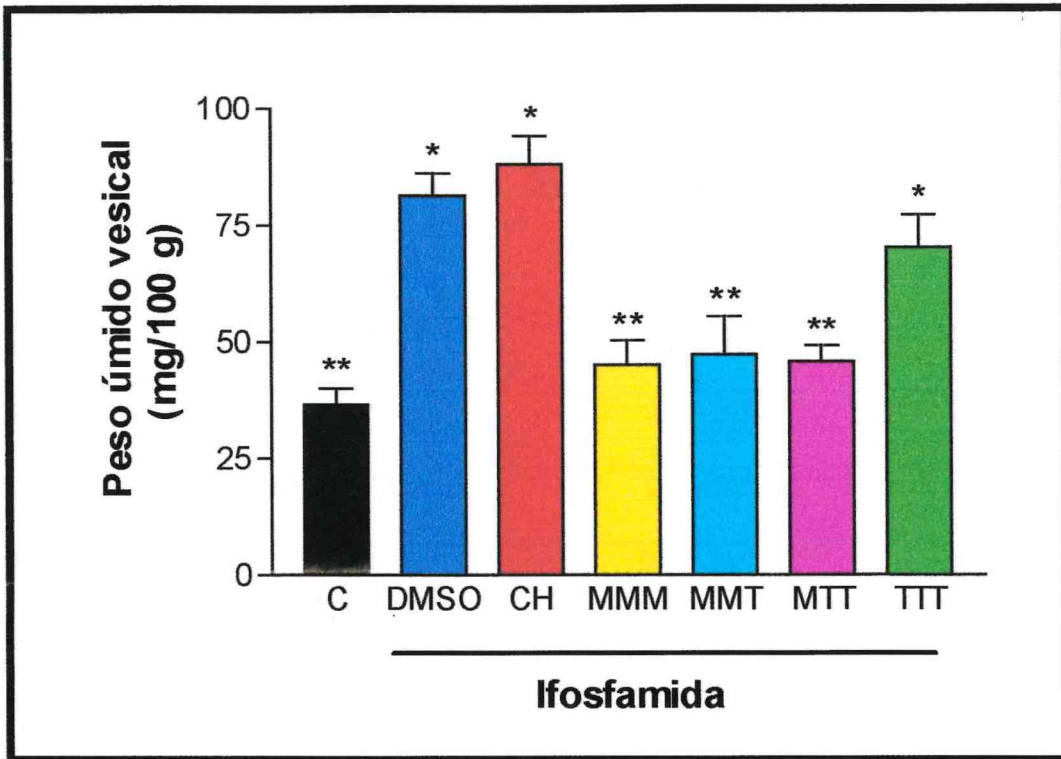


FIGURA 39. Efeitos dos diferentes tratamentos com a ternatina (sc) no aumento de peso úmido vesical na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS). A ifosfamida (400 mg/kg) induziu um aumento de peso úmido vesical que foi medido 24 h depois da indução de cistite no grupo tratado apenas com IFS (CH), ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 horas depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + ternatina (MMT – 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de ternatina 8 h depois; MTT – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de ternatina 4 e 8 h depois), no grupo dos animais tratados com ternatina (TTT – 3 doses de ternatina, uma 40 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais aos quais foram administrados DMSO a 5% (DMSO – 3 doses de DMSO a 5%, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados pelas médias \pm EPM ($n = 6$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (C, animais tratados apenas com salina) e ** $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), por ANOVA e teste de Bonferroni.

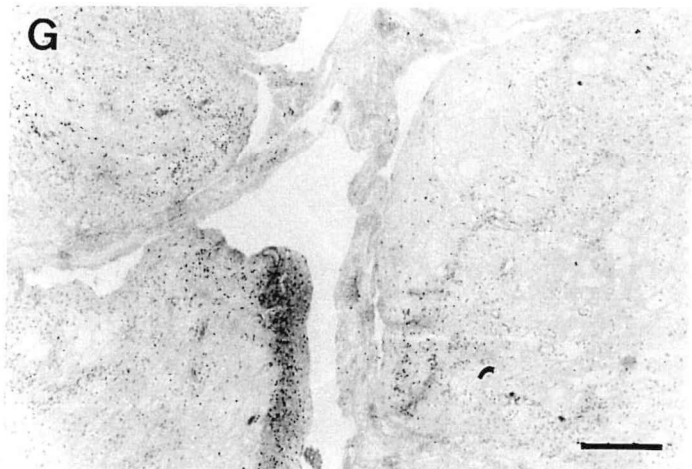
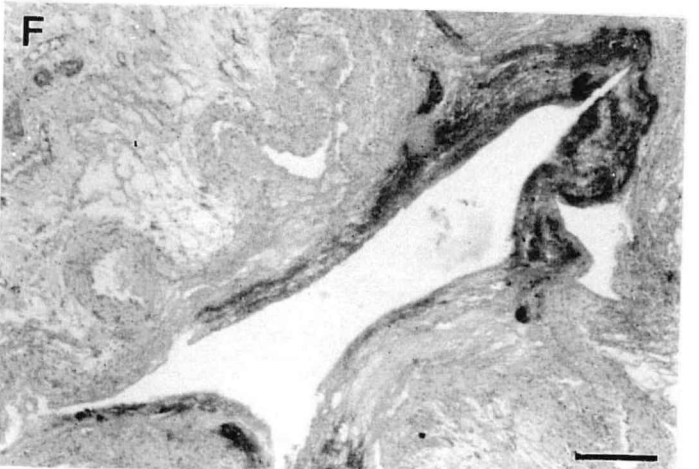
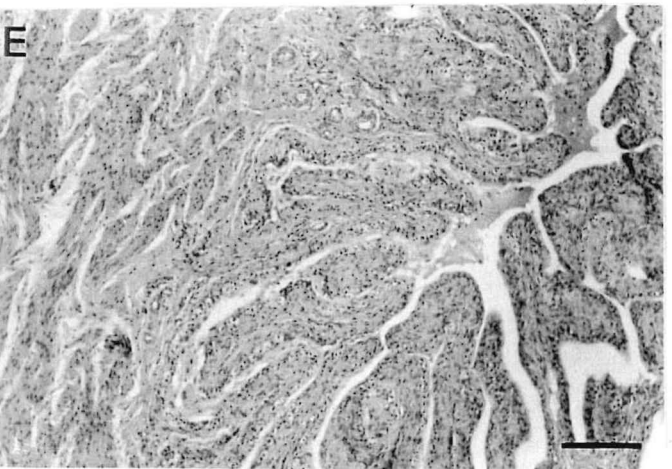
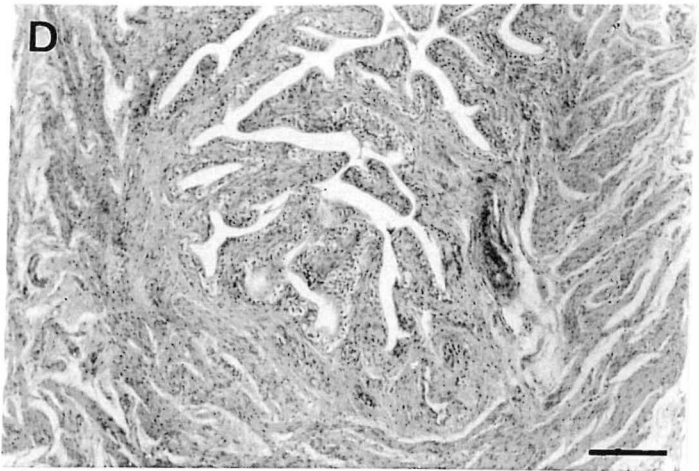
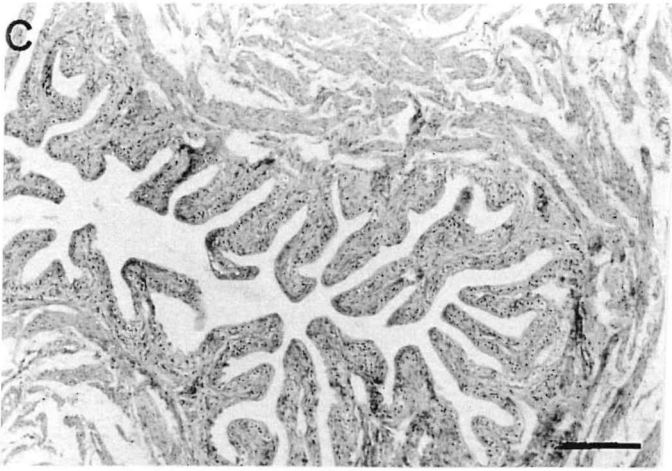
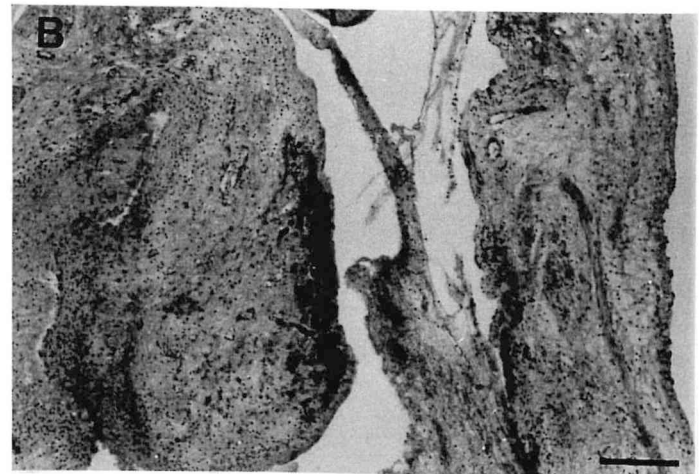
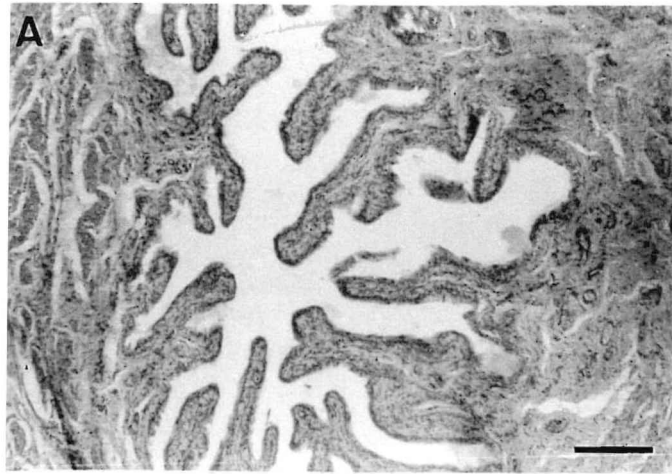
TABELA 19 – Análises macroscópica e microscópica dos efeitos da ternatina (sc) na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (IFS)

Grupos	Análise Macroscópica (Edema)	Análise Macroscópica (Hemorragia)	Análise Microscópica
C	0 (0-0)**	0 (0-0)**	0 (0-0)**
DMSO	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
CH	2,5 (2-3)*	2 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-2)**	0 (0-2)**	0 (0-2)**
MMT	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
MTT	0 (0-1)**	0 (0-1)**	0 (0-1)**
TTT	2 (1-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*

A ifosfamida (400 mg/kg, *ip*) induziu alterações macroscópicas e microscópicas que foram avaliadas 24 h depois da sua administração no grupo tratado apenas com IFS (CH) ou no grupo dos animais tratados com mesna (MMM – 3 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois), nos grupos dos animais tratados com mesna + ternatina (MMT– 2 doses de mesna, uma imediatamente antes da IFS e a outra 4 h depois e 1 dose de ternatina 8 h depois; MTT – 1 dose de mesna imediatamente antes da IFS e 2 doses de ternatina 4 e 8 h depois), no grupo dos animais tratados com ternatina (TTT – 3 doses de ternatina, uma 40 min antes da IFS e as outras 4 e 8 h depois) e no grupo dos animais aos quais foram administrados DMSO a 5% (DMSO – 3 doses de DMSO a 5%, uma imediatamente antes da CFS e as outras 4 e 8 h depois). Os resultados são reportados por medianas e variações (n = 6). *p<0,05 em relação ao grupo controle (C -animais tratados apenas com salina) e **p<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com ifosfamida (CH), pelos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

FIGURA 40

FIGURA 40. Análise histopatológica representativa das paredes da bexiga em seção corada por H&E (x 40), dos efeitos da ternatina na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida. A: Bexiga normal. **B:** Cistite hemorrágica em ratos tratados 24 horas antes com ifosfamida (400 mg/kg, *ip*). Observa-se intenso dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **C:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de mesna (20% da dose de ifosfamida, *ip*). Observa-se preservação do urotélio e ausência de edema, hemorragia, infiltração leucocitária e ulcerações. **D:** Bexigas de ratos tratados com 2 doses de mesna e 1 dose de ternatina (25 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **E:** Bexigas de ratos tratados com 1 dose de mesna e 2 doses de ternatina (25 mg/kg, *sc*). Observa-se ausência de alterações microscópicas como acontece com o tratamento com 3 doses de mesna. **F:** Bexigas de ratos tratados com 3 doses de ternatina (25 mg/kg, *sc*). Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia e deposição de fibrina. **G:** Bexigas de ratos aos quais foram administradas 3 doses de DMSO a 5%. Observa-se dano urotelial, edema, infiltração leucocitária, hemorragia. Barra, 250 μ m.



4 DISCUSSÃO

4 DISCUSSÃO

Os derivados das oxazafosforinas como a ciclofosfamida e a ifosfamida estão entre as drogas citotóxicas mais utilizadas, desde que são ativas contra uma grande variedade de doenças benignas e malignas (HUNTER & HARRISON, 1982; BRADE *et al.*, 1985; BROCK, 1986; GERSHWIN *et al.*, 1974). Um dos efeitos adversos mais problemáticos destes agentes, que frequentemente limita suas utilidades clínicas, é o desenvolvimento de cistite hemorrágica aguda e crônica (PHILLIPS *et al.*, 1961; WATSON & NOTLEY, 1973; BRADE *et al.*, 1985; BROCK, 1986). O mesna, ácido 2-mercaptoetano sulfonato, é um agente detoxificante regional específico que pode prevenir ou marcadamente reduzir, as complicações urinárias da terapia com oxazafosforinas (BROCK & POHL, 1983; EHRLICH *et al.*, 1984; BROCK, 1986; VAN *et al.*, 1972; BROCK *et al.*, 1981; BROCK *et al.*, 1984; BROCK *et al.*, 1982; FREEDMAN *et al.*, 1984). Atualmente, o protocolo clínico mais universalmente aceito de profilaxia com o mesna é aquele que utiliza mesna endovenoso (20% da dose de ciclofosfamida ou ifosfamida), imediatamente antes do quimioterápico e 4 e 8 horas após, também endovenoso, ou o mais atual que é usar as 2 últimas doses de mesna (40% da dose de ciclofosfamida ou de ifosfamida) 2 e 6 horas após, por via oral (GOREN *et al.*, 1997).

No presente estudo, mostrou-se evidências indicando que a dexametasona (administrada por via intra-peritoneal e oral) poderia ser uma ferramenta útil quando combinada com o mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. Tal afirmação encontra suporte nas seguintes

observações: A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por dexametasona reduziu o aumento de peso úmido vesical induzido pelos tratamentos com ciclofosfamida ou ifosfamida, mostrando nenhuma diferença significativa quando comparada com o efeito de 3 doses de mesna (Figuras 7, 9, 11 e 13). A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por dexametasona quase aboliu o edema e a hemorragia mostradas na análise macroscópica das bexigas tratadas com ciclofosfamida ou ifosfamida, com nenhuma diferença significativa quando comparadas com os efeitos de 3 doses de mesna (Tabelas 1 - 4). A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por dexametasona quase aboliu a erosão de mucosa, a infiltração de leucócitos e as ulcerações observadas na análise microscópica das bexigas tratadas com ciclofosfamida ou ifosfamida, com nenhuma diferença significativa quando comparada com o efeito de 3 doses de mesna (Figuras 8, 10, 12 e 14).

Estes dados sugerem que a substituição das duas últimas doses de mesna (administrada por via intra-peritoneal ou oral) por dexametasona (administrada por via intra-peritoneal ou oral) é tão efetiva na prevenção da cistite hemorrágica quanto as três doses de mesna utilizadas na prevenção clássica da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida.

No presente estudo, também foi demonstrado que num total de 18 ratos tratados com ifosfamida e 3 doses de mesna, observou-se 33,3% de alterações na avaliação microscópica das bexigas (cistite subclínica). No entanto, o tratamento com ifosfamida, 1 dose de mesna e 2 doses de dexametasona mostrou apenas 16,67% de alterações na avaliação microscópica das bexigas de 18 ratos. Adicionalmente, foi observado que o tratamento com ifosfamida, 1 dose de mesna e 2 doses de salina apresentou 55,55% de alterações na avaliação microscópica

das bexigas de 18 ratos. Estes dados demonstram que o tratamento com ifosfamida, 1 dose de mesna e 2 doses de dexametasona foi mais eficiente em prevenir a cistite hemorrágica do que o tratamento com ifosfamida e 3 doses de mesna, e que apenas 1 dose de mesna não previne a cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (Figuras 17 e 18; Tabelas 6 e 9).

Também foi observado que num total de 18 ratos tratados com ciclofosfamida e 3 doses de Mesna, ainda existiam 22,2% de alterações microscópicas nas bexigas dos animais (cistite subclínica). Entretanto, quando foi usado o tratamento com ciclofosfamida, 1 dose de Mesna e 2 doses de dexametasona não foram encontradas alterações microscópicas nos 18 ratos avaliados. Também foi observado que o tratamento com a ciclofosfamida, 1 dose de Mesna e 2 doses de salina mostrou 50% de alterações microscópicas nas bexigas de 18 ratos. Assim, estes dados demonstram que o tratamento com ciclofosfamida, 1 dose de Mesna e 2 doses de dexametasona foi mais eficiente na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, do que o tratamento com 3 doses de Mesna, e que apenas 1 dose de mesna não previne a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida (Figuras 15 e 16; Tabelas 5 e 8).

Observou-se, também, que quando foram administradas 1 dose de mesna (*ip*) imediatamente antes da administração da ifosfamida, e duas doses da associação de mesna (*vo*) + dexametasona (*vo*), 2 e 6 horas depois da administração de ifosfamida, houve inibição de 100% do aumento de peso úmido vesical (134,58% de aumento) induzido pela ifosfamida, enquanto que o tratamento com três doses de mesna promoveu uma inibição de 82,07% do aumento de peso úmido vesical induzido pela ifosfamida. Embora não sendo

significante estatisticamente, a diferença de 17,93% de inibição do aumento de peso úmido vesical com o uso adicional de dexametasona, proporcionou um melhor resultado do que o tratamento com três doses de mesna, pois inibiu completamente o aumento do peso úmido vesical induzido pela ifosfamida (Figuras 19 e 20; Tabela 7). Também, foi demonstrado que o tratamento de 18 animais com 1 dose de mesna (*ip*) imediatamente antes da administração da ifosfamida e 2 doses da associação de mesna (*vo*) + dexametasona (*vo*), 2 e 6 horas depois da administração de ifosfamida, promoveu nenhum percentual de alterações macroscópicas para edema e hemorragia e nenhum percentual de alterações microscópicas, mostrando mais uma vez a eficácia da associação do mesna com a dexametasona para promover uma total prevenção da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (Tabela 9).

Os dados do presente trabalho demonstram escapes ao uso do mesna, que podem ser corroborados com dados da literatura (SHEPHERD *et al.*, 1991; ETLIK *et al.*, 1997; RATLIFF & WILLIAMS, 1998; WALKER, 1999), os quais demonstram que o mesna embora seja usado por mais de uma década para reduzir a incidência da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida, ainda ocorrem casos de cistite hemorrágica em 10-40% dos pacientes tratados com o mesmo. Ostro e colaboradores encontraram evidências de cistite hemorrágica sintomática em 13 de 70 pacientes (19%) que receberam doses altas de mesna (60 a 90% da dose de ciclofosfamida) e em 6 de 33 pacientes (18%) que receberam doses muito altas de mesna (150% da dose de ciclofosfamida) (OST *et al.*, 1987). Shepherd e colaboradores reportaram hematúria severa ou consistente (33%) e sangramento severo (12,5%) num total de 51 pacientes que receberam

mesna numa dose diária de 160% da dose diária de ciclofosfamida, divididas em doses separadas às 0, 3, 6 e 9 horas depois de cada dose de ciclofosfamida (SHEPHERD *et al.*, 1991). Assim, fica evidente que há algum escape com o uso do mesna isolado, mesmo quando usado em doses elevadas, o que por certo torna mais relevante a observação feita no presente estudo, de que a dexametasona possa associar-se ao mesna para prevenir totalmente esta refratariedade apresentada por este grupo de pacientes.

Num estudo retrospectivo de prontuários do Hospital Universitário Walter Cantídio, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, foi recentemente reportado que pacientes usando corticosteróides como imunossuppressores, combinados com a ciclofosfamida no tratamento de lupus eritematoso sistêmico, tiveram baixíssima incidência de cistite hemorrágica (ROCHA & OLIVEIRA, 1997).

Entretanto, é bom frisar, que foi observado no presente trabalho que a substituição de todas as doses de mesna por dexametasona não preveniu a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, o que mostra a necessidade da dose de mesna inicial para neutralizar a acroleína.

Como outros glicocorticóides, a dexametasona pode induzir a síntese de lipocortina que inibe a enzima fosfolipase A₂, prevenindo a geração de prostaglandinas, leucotrienos e do PAF (FLOWER & BLACKWELL, 1979). Também, os glicocorticóides inibem a síntese e a atividade de citocinas incluindo a IL-1 (BOCHNER *et al.*, 1987) e o TNF- α (BEUTLER *et al.*, 1986), e a expressão da NOS induzida (SZABO, 1998). Dados anteriores do Laboratório de Farmacologia

da Inflamação e do Câncer (LAFICA), do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, demonstraram que o NO, PAF e citocinas como o TNF- α e a IL-1 são mediadores cruciais envolvidos nos eventos inflamatórios da cistite hemorrágica, como também no dano urotelial e hemorragia (GOMES *et al.*, 1995; SOUZA-FILHO *et al.*, 1997; RIBEIRO *et al.*, 1998). Mais recentemente, o mesmo grupo demonstrou que utilizando-se técnicas farmacológicas, bioquímicas e de imunohistoquímica, a modulação dos níveis de TNF- α e IL-1 e conseqüentemente da expressão da NOS induzida e dos níveis de NO, podem se constituir em ferramentas eficazes no controle da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida (RIBEIRO *et al.*, 2000, submetido). Assim os presentes resultados mostrando que a dexametasona inibe a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida poderiam ser explicados pelo potente efeito do corticóide como um inibidor da síntese de citocinas com o TNF- α e IL-1, PAF e da expressão da NOS induzida.

Adicionalmente, foi demonstrado pelos pesquisadores do LAFICA o importante papel dos neutrófilos na patogênese da cistite hemorrágica (ASSREUY *et al.*, 1999). Este estudo mostrou que lectinas de plantas com afinidade específica de ligação por resíduos de glicose-manose reduziram o dano urotelial e os eventos inflamatórios presentes na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, provavelmente pelo bloqueio da migração de neutrófilos para as bexigas inflamadas. Como a dexametasona é um potente inibidor da migração de neutrófilos, pode ser provável que esta atividade antiinflamatória da dexametasona possa estar contribuindo na prevenção da cistite hemorrágica.

Tem sido proposto que o dano urotelial ocorre pelo contato direto com a acroleína, um metabólito citotóxico da ciclofosfamida e da ifosfamida, que é excretado na urina e causa a cistite hemorrágica (COX, 1979). Assim, os dados apresentados neste estudo poderiam ser explicados pelo fato de que o mesna parece ser necessário para proteção inicial através do seu efeito neutralizante do dano urotelial iniciado pela acroleína, enquanto que a dexametasona poderia estar inibindo a liberação e/ou os efeitos dos mediadores do processo inflamatório que se segue.

Considerando estes dados e o fato de que a dexametasona já é rotineiramente usada como um componente padrão dos regimes antieméticos para numerosos protocolos de quimioterapia do câncer (HESKETH *et al.*, 1994; YEN *et al.*, 1998; BIRCH *et al.*, 1998) e como imunossupressor de doenças autoimunes (ROCHA & OLIVEIRA, 1997), a dexametasona poderia ser testada em ensaios clínicos como um substituto das duas últimas doses de mesna ou associado ao mesna nas duas últimas doses do tratamento, para a inibição da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida.

Devido aos bons resultados obtidos com a dexametasona em combinação com o mesna na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, foram também estudadas na presente investigação outras drogas antiinflamatórias na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, como duas drogas antiinflamatórias não esteroidais (DAINES), inibidores da enzima ciclooxigenase (COX), que são a indometacina (inibidor mais seletivo para COX-1) e o meloxicam (inibidor mais seletivo para COX-2). Também foram testados produtos naturais com atividade antiinflamatória comprovada

cientificamente, como é o caso do extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão), da fração aquosa obtida do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), e da ternatina (flavonóide isolado do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less., Macela), na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida.

A indometacina e o meloxicam são DAINES que promovem o seu efeito antiinflamatório inibindo a enzima ciclooxigenase (COX), a qual cataliza o primeiro passo da conversão do ácido aracdônico em prostanóides, como prostaglandinas e tromboxanos. Os prostanóides contribuem para diversos processos fisiológicos e patológicos incluindo a inflamação. As DAINES são um grupo heterogêneo de compostos, geralmente sem correlação química, mas com efeitos terapêuticos semelhantes (efeitos antiinflamatório, analgésico e antipirético) e também efeitos colaterais (erosão gastrointestinal, redução da função renal, inibição da agregação plaquetária) (PAIRET *et al.*, 1999). Recentemente, foi demonstrado que existem pelo menos duas isoenzimas COX. A COX-1, que é constitutiva e produz as prostaglandinas que protegem o estômago e o fígado de danos, e a COX-2, que é induzida por estímulos inflamatórios, como citocinas, e produzem prostaglandinas que contribuem para a dor e aumento da inflamação. Tem sido proposto que a inibição de COX-2 seja responsável pelos efeitos antiinflamatórios dos DAINES, enquanto que a inibição da enzima COX-1 constitutiva seja responsável pelos efeitos adversos gástricos e renais (VANE, 1994). A indometacina é uma droga mais seletiva para COX-1 enquanto que o meloxicam é mais seletivo para COX-2.

Neste estudo demonstrou-se que tanto a indometacina quanto o meloxicam mostraram-se eficazes na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida. Isto pode ser explicado pelos seguintes fatos: A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por indometacina ou meloxicam reduziu o aumento de peso úmido vesical induzidos pelos tratamentos com ciclofosfamida ou ifosfamida, mostrando nenhuma diferença significativa quando comparada com o efeito de 3 doses de mesna (Figuras 21, 23, 25 e 27). A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por indometacina ou meloxicam quase aboliu o edema e a hemorragia mostradas na análise macroscópica das bexigas tratadas com ciclofosfamida ou ifosfamida, com nenhuma diferença significativa quando comparadas com os efeitos de 3 doses de mesna (Tabelas 10 – 13). A substituição de 1 ou 2 doses de mesna por indometacina ou meloxicam quase aboliu a erosão de mucosa, a infiltração de leucócitos e as ulcerações observadas na análise microscópica das bexigas tratadas com ciclofosfamida ou ifosfamida, com nenhuma diferença significativa quando comparada com o efeito de 3 doses de mesna (Tabelas 10 - 13, e Figuras 22, 24, 26 e 28).

Entretanto a substituição de todas as doses de mesna por indometacina ou meloxicam não preveniu a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, demonstrando-se a necessidade do mesna na uroproteção inicial do dano causado pela acroleína, enquanto que o processo inflamatório que se segue poderia ser inibido pelos efeitos antiinflamatórios da indometacina ou do meloxicam.

De acordo com a hipótese de seletividade de COX-1 e COX-2, deveria ser esperado que as DAINES que apresentem seletividade para COX-2 tenham a

mesma potência antiinflamatória quando comparadas com as DAINES padrão, mas tenham menos efeitos na produção de prostaglandinas fisiológicas (VANE, 1994; VAN RYN & PAIRET, 1997; PARNHAM, 1997 apud PAIRET *et al.*, 1999). Assim, os benefícios de um inibidor mais seletivo ou apenas seletivo para COX-2, são em relação aos efeitos adversos, apresentando menos efeitos no sistema gastrointestinal, renal e também no sistema hemostático, além de não perder atividade antiinflamatória em comparação com os DAINES tradicionais (PAIRET *et al.*, 1999). Fazendo-se uma comparação dos efeitos da indometacina e do meloxicam na cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida, observou-se que a indometacina promoveu melhores resultados, apesar destes não serem diferentes estatisticamente dos resultados do meloxicam. Isto foi observado quando, a substituição de duas últimas doses de mesna por indometacina promoveu uma inibição do aumento do peso úmido vesical induzido pela ciclofosfamida de 93,02%, enquanto que o meloxicam promoveu uma inibição de 86,38%. E a substituição de duas últimas doses de mesna por indometacina promoveu uma inibição do aumento de peso úmido vesical induzido pela ifosfamida de 84,1%, enquanto que o meloxicam promoveu uma inibição de 73,31%. Também, a substituição de duas doses de mesna por indometacina foi melhor que a substituição de duas últimas doses de mesna por meloxicam, na inibição das alterações macroscópicas (edema e hemorragia) e alterações microscópicas (erosão da mucosa, infiltração celular inflamatória e ulcerações) induzidas pela ifosfamida, como pode ser observado pelos escores das tabelas 11 e 13.

A indometacina apesar de potente antiinflamatório tem sua utilidade clínica restrita a poucas situações devido a grande incidência de efeitos colaterais importantes com o seu uso. Embora não fosse objetivo da presente investigação, sentimos ao final deste trabalho a ausência de uma análise das mucosas gástricas dos animais tratados com indometacina ou meloxicam, para podermos de fato, comparar a eficácia terapêutica, baseadas não apenas no melhor efeito antiinflamatório, mas também na incidência de toxicidade gastrointestinal.

Neste estudo, também demonstrou-se que os produtos naturais com atividade antiinflamatória comprovada cientificamente, como o extrato hidroalcolico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira), a fração aquosa do extrato hidroalcolico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) e a ternatina, um flavonóide isolado do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. (Macela), mostraram-se eficazes, em combinação com o mesna, na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida.

Estes dados foram demonstrados pelas seguintes observações: A substituição de 1 ou 2 doses de mesna pelo extrato hidroalcolico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) ou pela fração aquosa do extrato hidroalcolico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) ou pela ternatina, reduziu o aumento de peso úmido vesical induzidos pelos tratamentos com ciclofosfamida ou ifosfamida, mostrando nenhuma diferença significativa quando comparada com o efeito de 3 doses de mesna (Figuras 29, 31, 33, 35, 37 e 39). A substituição de 1 ou 2 doses de mesna pelo extrato hidroalcolico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) ou pela fração aquosa do extrato hidroalcolico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) ou pela ternatina

quase aboliu o edema e a hemorragia mostradas na análise macroscópica das bexigas tratadas com ciclofosfamida ou ifosfamida, com nenhuma diferença significativa quando comparadas com os efeitos de 3 doses de mesna (Tabelas 14 – 19). A substituição de 1 ou 2 doses de mesna pelo extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) ou pela fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) ou pela ternatina quase aboliu a erosão de mucosa, a infiltração de leucócitos e as ulcerações observadas na análise microscópica das bexigas tratadas com ciclofosfamida ou ifosfamida, com nenhuma diferença significativa quando comparada com o efeito de 3 doses de mesna (Figuras 30, 32, 34, 36, 38 e 40).

Entretanto, como para as outras drogas antiinflamatórias utilizadas neste estudo, a substituição das três doses de mesna, utilizadas no tratamento clássico da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, por três doses do extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira) ou da fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) ou da ternatina, não preveniu a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida.

Portanto, mais uma vez foi observada a necessidade da dose inicial do mesna, para inibir o dano urotelial iniciado pela acroleína, enquanto que o processo inflamatório que se segue é inibido pelos produtos naturais com atividade antiinflamatória, utilizados neste estudo.

Foi recentemente reportado que a fração de taninos do extrato de acetato de etila de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. foi capaz de inibir os eventos inflamatórios (edema vesical e aumento da permeabilidade vascular) que ocorrem

na patogênese da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida, provavelmente pela inibição da liberação de TNF- α , IL-1 e outros mediadores inflamatórios secundários (VIANA et al., 1997). Em concordância com estes dados, demonstrou-se neste estudo, que 1 dose de mesna em combinação com duas doses do extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., promoveu prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, possivelmente, pela inibição inicial pelo mesna, dos danos causados pela acroleína, e em seguida, pela inibição da liberação de mediadores inflamatórios, pelo extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., como TNF- α e IL-1 que parecem estar envolvidos no processo inflamatório, que ocorre na cistite hemorrágica (GOMES et al., 1995).

Dados da literatura, também têm demonstrado, que a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) apresenta atividades analgésicas e antiinflamatórias que parecem ocorrer apenas em eventos leucócitos-dependentes, como foi demonstrado que o tratamento com a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) inibiu de maneira efetiva a incapacitação articular, a migração de neutrófilos e o edema de pata, induzidos por carragenina, e também bloqueou o aumento de permeabilidade vascular cutânea induzido por leucotrieno B₄ (LTB₄) (MAGALHÃES et al., 1997). Também foi demonstrado por Viana e colaboradores que a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) apresenta atividades analgésicas e antiinflamatórias que parecem ocorrer pela inibição da enzima ciclooxigenase, como foi mostrado que o

tratamento com a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) foi efetivo em inibir a inflamação articular, as contorções abdominais, e a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal induzidos por zimozam (VIANA *et al.*, 1998). Assim, corroborando com estes dados, no presente estudo demonstrou-se que a substituição de duas doses de mesna pela fração aquosa do extrato hidroalcoólico de *Ageratum conyzoides* L., pode estar inibindo a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, inicialmente pela inibição dos danos causados pela acroleína promovidos pelo mesna, e depois, provavelmente, pela inibição do processo inflamatório que se segue, através da inibição da enzima ciclooxigenase, promovida pelo tratamento com a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L.

Dados da literatura já demonstraram que a ternatina inibe o edema de pata induzido pela carragenina, sugerindo que ela exerce uma ação inibitória sobre o sistema ciclooxigenase do metabolismo do ácido aracdônico e pode suprimir a liberação de mediadores como, prostaglandinas e leucotrienos (SOUZA, 1993). Assim, de acordo com esses dados, observou-se neste estudo, que a substituição das duas últimas doses de mesna pela ternatina preveniu, de maneira significativa quando comparada com o tratamento com três doses de mesna, a cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida, provavelmente através de sua ação inibitória sobre o sistema ciclooxigenase. Mas, é importante notar que o mesna é necessário para inibir o dano urotelial inicial causado pela acroleína.

Dentre os três produtos naturais com atividade antiinflamatória comprovada cientificamente utilizados neste estudo, o que promoveu uma melhor inibição da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida foi a ternatina,

provavelmente por ser o princípio ativo já isolado do extrato de *Egletes viscosa* Less, enquanto que os demais produtos naturais utilizados neste estudos estavam na forma de extrato da planta, como o extrato hidroalcoólico da casca de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. e a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ageratum conyzoides* L., possivelmente apresentando, uma menor concentração do princípio ativo destas plantas, diferente do princípio ativo puro, como é o caso da ternatina.

Em resumo, os dados apresentados nesse estudo, sugerem possíveis alternativas ao protocolo de prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida. Atualmente na clínica, este protocolo é feito administrando-se 1 dose de mesna por via endovenosa (ev) imediatamente antes da ciclofosfamida ou ifosfamida, e 2 doses de mesna (ev) 4 e 8 horas depois do quimioterápico; ou 1 dose de mesna (ev) imediatamente antes da ciclofosfamida ou ifosfamida e 2 doses de mesna por via oral (vo) 2 e 6 horas depois da administração do quimioterápico. Assim, as alternativas a esse protocolo seriam a substituição das duas últimas doses de mesna por drogas antiinflamatórias como as testadas neste estudo, as quais promoveram prevenção da cistite hemorrágica experimental em ratos induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida de maneira significativa ($p < 0,05$) quando comparadas com o protocolo clássico que utiliza três doses de mesna. Outra alternativa seria o uso da dexametasona, em ensaios clínicos, associada ao mesna nas duas últimas doses do tratamento, na tentativa de se obter uma total inibição da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, como foi observado experimentalmente. Dentre as drogas antiinflamatórias utilizadas neste estudo, deve-se dar destaque a dexametasona

que apresentou melhores resultados, e por isso já está sendo testada em um protocolo clínico no Instituto do Câncer do Ceará, em voluntários que estão utilizando a ciclofosfamida ou a ifosfamida.

5 CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

- No modelo de cistite hemorrágica experimental em ratos, a substituição das 2 últimas doses de mesna (*ip* ou *vo*) por dexametasona (*ip* ou *vo*) na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida ou ifosfamida, foi tão efetiva quanto o clássico protocolo utilizando 3 doses de mesna.
- A substituição das duas últimas doses de mesna por indometacina ou meloxicam, também foi eficiente na prevenção da cistite hemorrágica experimental, quando comparado com o clássico protocolo utilizando 3 doses de mesna.
- Os produtos naturais com atividade antiinflamatória cientificamente comprovada, como a *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira do Sertão), o *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto) e a ternatina (flavonóide isolado do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less., Macela), mostraram-se, também efetivos, substituindo as duas últimas doses de mesna na prevenção da cistite hemorrágica experimental, quando comparados com a prevenção com 3 doses de mesna.
- Dentre as drogas antiinflamatórias analisadas neste estudo, a dexametasona mostrou-se mais eficiente do que as demais, e potenciou o efeito do mesna quando foram administradas duas doses da associação (mesna+dexametasona), na prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida.

- Os resultados deste estudo abrem novas perspectivas para que as substâncias estudadas, particularmente a dexametasona, possam vir a ser avaliadas em protocolos clínicos como substitutas ou adicionalmente às 2 últimas doses de mesna para prevenção da cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida e ifosfamida, o que certamente poderia levar a uma nova abordagem terapêutica para este efeito colateral importante da quimioterapia do câncer.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABENA, A. A., KINTASNGOULA-MBAYA, G. S., DIANTAMA, J., BIOKA, D. Effects analgésiques d'un extrait brut d. *Ageratum conyzoides* chez le rat. **Encephale**, v.19, p. 329-332, 1993.
- ABENA, A. A., OUAMBA, J. M., KEITA, A. Anti-inflammatory analgesic and antipyretic activities of essential oil of *Ageratum conyzoides*. **Phytother. Res.**, v. 10, p. 64-65, 1996.
- ANDERSON, E. E., COBB, O. E., GLENN, J. F. Cyclophosphamide hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 97, p. 857, 1967.
- ANDRIOLE, G. L., YUAN, J. J., CATALONA, W. J. Cystotomy, temporary urinary diversion and bladder packing in the management of severe cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 143, p. 1006-1007, 1990.
- ARNDT, C. A. S., BLIS, F. M., McCULLY, C. L., COLVIN, O. M., POPLACK, D. G. Cerebrospinal fluid penetration of active metabolites of cyclophosphamide and ifosfamide in rhesus monkeys. **Cancer Res**, v. 48, p. 2113-2115, 1988.
- ASSREUY, A. M. S., MARTINS, G. J., MOREIRA, M. E. F., BRITO, G. A. C., CAVADA, B. S., RIBEIRO, R. A., FLORES, C. A. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by glucose-mannose binding plant lectins. **J. Urol.**, v. 161, p. 1988-1993, 1999.
- AUPHAN, N., DiDONATO, J. A., ROSETTE, C., HELMBERG, A., KARIN, M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- κ B synthesis. **Science**, v. 270, p. 286-290, 1995.

- BANDEIRA, M. A. M. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (syn. *Astronium urundeuva* Engl.), aroeira-do-sertão.** Fortaleza, 1993. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará.
- BARNES, P.J. Antiinflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms (editoreal). **Clin. Sci.**, v. 94, p. 557-572, 1998.
- BENNETT, A. H. Cyclophosphamide and hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 111, p. 603, 1974.
- BERKSON, B. M., LOME, L. G., SHAPIRO, I. Severe cystitis induced by cyclophosphamide. Role of surgical management. **JAMA**, v. 225, p. 605, 1973.
- BEUTLER, B., KROCHIN, N., MILSARK, I. W., LEUDKE, C., CERAMI, A. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. **Science**, v. 232, p. 977, 1986.
- BIRCH, R., WEAVER, C. H., CARSON, K., BUCKNER, C. D. A randomized trial of once vs twice daily administration of intravenous granisetron with dexamethasone in patients receiving high-dose cyclophosphamide, thiotepa and carboplatin. **Bone Marrow Transplant.**, v. 22, p. 685-688, 1998.
- BOCHNER, B. S., RUTLEDGE, B. K., SCHLEIMER, R. P. Interleukin 1 production by human lung tissue II: inhibition by antiinflammatory steroids. **J. Immunol.**, v. 139, p. 2303, 1987.
- BOTTA Jr., J. A., NELSON, L., WEIKEL Jr. J. H. Acetylcysteine in the prevention of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 51, p. 1051, 1973.

BOURSCAUX, F., BROCK, N. Chemotherapeutic action of a cyclic nitrogen mustard phosphamide ester (B518-ASTA) in experimental tumours in the rat. **Nature**, v. 181, p. 931, 1958.

BRADY, W. P., HERDRICH, K., VARINI, M. Ifosfamide – pharmacology, safety and therapeutic potential. **Cancer Treat. Rev.**, v. 12, p. 1-47, 1985.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. Fortaleza: Centro de Divulgação Universitária, 1953.

BROCK, N. (1977) apud BRADY, W., SEEBER, S., HERDRICH, K. Comparative activity of ifosfamide and cyclophosphamide. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v.18, suppl 2, p. S1-S9, 1986.

BROCK, N. (1979) apud BRADY, W., SEEBER, S., HERDRICH, K. Comparative activity of ifosfamide and cyclophosphamide. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v.18, suppl 2, p. S1-S9, 1986.

BROCK, N. (1983) apud KAIJSER, G. P., KORST, A., BEIJNEN, J. H., BULT, A., UNDERBERG, W. J. M. The analysis of ifosfamide and its metabolites (Review). **Anticancer Res.**, v. 13, p. 1311-1324, 1993.

BROCK, N. Ideas and reality in the development of cancer chemotherapeutic agents with particular reference to oxazaphosphorine cytostatics. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 111, p. 1-12, 1986.

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

- BROCK, N., HILGARD, P., PEUKERT, M., POHL, J., SINDERMAN, H. Basis and new developments in the field of oxazaphosphorines. **Cancer Invest.**, v. 6, p. 513-532, 1988.
- BROCK, N., HILGARD, P., POHL, J., ORMSTAD, K., ORRENIUS, S. Pharmacokinetics and mechanisms of action of detoxifying low-molecular weight thiols. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 108, p. 87-97, 1984.
- BROCK, N., POHL J., STEKAR J. Detoxification of urotoxic oxazaphosphorines by sulfhydryl compounds. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 100, p. 311, 1981.
- BROCK, N., POHL J., STEKAR J. Studies on the urotoxicity of oxazaphosphorines and its prevention. 2. Comparative study on the uroprotective efficacy of thiols and other sulfur compounds. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, v. 17, p. 1155-1163, 1981.
- BROCK, N., POHL, J. The development of mesna for regional detoxification. **Cancer Treat. Rev.**, v. 10, p. 33, 1983.
- BROCK, N., POHL, J., STEKAR, J., SCHEEF, W. Studies on the urotoxicity of oxazaphosphorine cytostatics and its prevention. 3. Profile of action of sodium 2-mercaptoethane sulphonate (mesna). **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, v. 17, p. 1377-1387, 1982.
- BROCK, N., STEKAR, J., POHL, J. Antidote to the urotoxic effects of the oxazaphosphorine derivatives cyclophosphamide, ifosfamide, and trofosfamide. **Naturwissenschaften**, v. 66, p. 60, 1970.

- BROCK, N., STEKAR, J., POHL, J., NIEMEYER, U., SCHEFFLER, G. Acrolein, the causative factor of urotoxic side-effects of cyclophosphamide, ifosfamide, trofosfamide and sufosfamide. **Arzneimittelforschung**, v. 29, p. 659-661, 1979.
- BRYANT, B. M., JARMAN, N., FORT, H. T., SMITH, I. E. Prevention of isophosphamide-induced urothelial toxicity with 2-mercaptoethan sulfonate sodium (Mesnum) in patients with advanced carcinoma. **Lancet**, v. 2, p. 657, 1980.
- BURCH, R. M., HALUSHKA, P. V. Vasopressin stimulates prostaglandin and thromboxane synthesis in toad bladder epithelial cells. **Amer. J. Physiol.**, v. 243, p. F593, 1982.
- BURK, C. D., RESTINAO, I., KAPLAN, B. S., MEADOWS, A. T. Ifosfamide induced renal tubular dysfunction and rickets in children with Wilms tumor. **J. Pediatr.**, v. 117, p. 331-335, 1990.
- BURKE, D. A., STODDART, J. C., WARD, M. K., SIMPSON, C. G. B. Fatal pulmonary fibrosis occurring during treatment with cyclophosphamide. **Br. Med. J.**, v. 285, p. 696, 1982.
- CALABRESI, P., CHABNER, B. A. Antineoplastic agents. In: GILMAN, A. G., et al. (Ed.) **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 8th ed. New York: Pergamon Press, 1990. chapt. 52, p. 1209-1263, 1990.
- CHABNER, B. A., ALLEGRA, C. J., CURT, G. A., CALABRESI, P. Antineoplastic Agents. In: GILMAN, A. G., et al. (Ed.) **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 9th ed. New York. Pergamon Press, 1996, chapt. 51, p. 1233-1287, 1996.

- CHASSCAU, L. D. The role of glutathione and glutathione S-transferase in the metabolism of chemical carcinogens and other eletrophilic agents. **Adv Cancer Res.**, v. 29, p. 175-274, 1979.
- CHAUDHURY, T. K., JACOBSON, E. D. Prostaglandin cytoprotection of gastric mucosa. **Gastroenterology**, v. 74, p. 58, 1978.
- CIRINO, G., FLOWER, R. J. Human recombinant lipocortin 1 inhibits prostacyclin production by human umbilical artery. **Prostaglandins**, v. 34, p. 59-62, 1987.
- COGGINS, P. R., RAVDIN, R. G., EISMAN, S. H. Clinical pharmacology and preliminary evaluation of cytoxan (cyclophosphamide). **Cancer Chemother. Rep.**, v. 3, p. 9, 1959.
- CONNORS, T. A. Protection against the toxicity of alkylating agents by thiols: the mechanism of protection and its relevance to cancer chemotherapy. A review. **Eur. J. Cancer**, v. 2, p. 293, 1966.
- CONNORS, T. A., COX, P. J., FARMER, F. B., FOSTER, A. B., JARMAN, M. Some studies of the active intermediates formed in the microsomal metabolism of cyclophosphamide and isophosphamide. **Biochem. Pharmacol.**, v. 23, p. 115-129, 1974.
- COOPER, A. J. D., WHITE, D. A., MATTHAY, R. A. Drug-induced pulmonary disease. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 133, p. 321-340, 1986.
- CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926. v. 2, p. 139.
- COX, P. J. Cyclophosphamide cystitis: Identification of acrolein as the causative agent. **Biochem. Pharmacol.**, v. 28, p. 2045-2049, 1979.

- CREAVEN, P. J., ALLEN, L. M., ALFORD, D. A., COHEN, M. H. Clinical pharmacology of isophosphamide. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 16, p. 77-86, 1974.
- CROCITTO, L. E., SIMPSON, J. F., WILSON, T. G. Bladder augmentation in the prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in the rat model. **Br. J. Urol.**, v. 78, p. 530-533, 1996.
- CROW, S. E., THEILER, G. H., MADEWELL, B. R., WELLER, R. E., HONNESS, A. M. Cyclophosphamide-induced cystitis in the dog and cat. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 171, p. 259, 1977.
- DECHANT, K. L., BROGDEN, R. N., PILKINGTON, T., FAULDS, D. Ifosfamide/Mesna. A review of its antineoplastic activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in cancer. **Drugs**, v. 42, p. 428-467, 1991.
- DeFRONZO, R. A., BRAINE, H., COLVIN, O. M., DAVIS, P. J. Water intoxication in man after cyclophosphamide therapy: time course and relation to drug activation. **Ann. Intern. Med.**, v. 78, p. 861, 1973.
- DEVRIES, C. R. , FREIHA, F. S. Hemorrhagic cystitis: A review. **J. Urol.**, v. 143, p. 1-9, 1990.
- DRAEGER, U., PETER, G., HOHORST, H. J. Deactivation of cyclophosphamide (NSC-26271) metabolites by sulfhydryl compounds. **Cancer Treat. Rep.**, v. 60, p. 355-359, 1976.
- DROLLER, M. J., SARAL, R., SANTOS, G. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **Urology**, v. 20, p. 256, 1982.

DUCKETT Jr., J. W., PETERS, P. C., DONALDSON, M. W. Severe cyclophosphamide hemorrhagic cystitis controlled with phenol. **J Pediatr. Surg.**, v. 8, p. 55, 1973.

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

EHRlich, R. M., FREEDMAN, A., GOLDSOBEL, A. B., STIEHM, E. R. The use of sodium 2-mercaptoethane sulfonate to prevent cyclophosphamide cystitis. **J. Urol.**, v. 131, p. 960, 1984.

EL-GENDI, M. A., NASSER, S. H., TOPPOZADA, M., ABDEL-RAHEEM, F. Pharmacotherapeutics of prostaglandin E2 and 15 (s) 15-methyl prostaglandin F2 in chronic schistosomal bladder ulcer: a clinico-endoscopic study. **Prostaglandins**, v. 24, p. 97, 1982.

ENGELHARDT, G., BOGEL, R., SCHNITZLER, C., UTZMANN, R. Meloxicam: influence on arachidonic acid metabolism. Part 2. In vivo findings. **Biochem. Pharmacol.**, v. 51, p. 29-38, 1996.

ENGELHARDT, G., HOMMA, D., SCHLEGEL, K., UTZMANN, R., SCHNITZLER, C. Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance. **Inflamm. Res.**, v. 44, p. 423-433, 1995a.

ENGELHARDT, G., HOMMA, D., SCHNITZLER, C. Meloxicam: a potent inhibitor of adjuvant arthritis in the lewis rat. **Inflamm. Res.**, v. 44, p. 548-555, 1995b.

- ETLIK, O., TOMUR, A., DEVECI, S., PISKIN, I., PECKCAN, M. Comparison of uroprotective efficacy of mesna and HBO treatments in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 158, p. 2296, 1997.
- FAIR, W. R. Formalin in the treatment of massive bladder hemorrhage. Techniques, results, and complications. **Urology**, v. 3, p. 573, 1974.
- FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q., LORENZETTI, B. B., MICHELIN, M. A., PERRETTI, M., FLOWER, R. J., POOLE, S. Role of lipocortin-1 in the anti-hyperalgesic actions of dexamethasone. **Br. J. Pharmacol.**, v. 121, p. 883-888, 1997.
- FISCHER, D. S. Alkylating agents. In: FISCHER, D. S., MARSH, J. C. (Eds.) **Cancer therapy**. Boston: GK Hall Medical, 1982.
- FLEMING, R. A., CRUZ, J. M., WEBB, C. D., KUCERA, G. L., PERRY, J. J., URD, D. D. Urinary elimination of cyclophosphamide alkylating metabolites and free thiols following two administration schedules of high-dose cyclophosphamide and mesna. **Bone Marrow Transplant.**, v. 17, p. 497-501, 1996.
- FLETCHER, B. S., KUJUBU, D. A., PERRIN, D. M., HERSCHMANN, H. R. Structure of the mitogen-inducible TIS10 gene and demonstration that the YIS10-encoded protein is a functional prostaglandin G/H synthase. **J. Biol. Chem.**, v. 267, p. 4338-4344, 1992.
- FLOWER, R. J., BLACKWELL, G. J. Antiinflammatory steroids induced synthesis of phospholipase A₂ inhibitor which prevents prostaglandin generation. **Nature**, v. 278, p. 456, 1979.

- FORNI, A. M., KOSS, L. G., GELLER, W. Cytological study of the effect of cyclophosphamide on the epithelium of the urinary bladder in man. **Cancer**, v. 17, p. 1348, 1964.
- FORSYTH, K. D., TALBOT, V. Role of glucocorticoids in neutrophil and endothelial adhesion molecule expression and function. **Med. Inflamm.**, v. 1, p. 101-106, 1992.
- FRAISER, L. H., KANEKAL, S., KEHRER, J. P. Cyclophosphamide toxicity, characterising and avoiding the problem. **Drugs**, v. 42, n. 5, p. 781-795, 1991.
- FREEDMAN, A., EHERLICH, R. M., LJUNG, B. M. Prevention of cyclophosphamide cystitis with 2-mercaptoethane sodium sulfonate: a histologic study. **J. Urol.**, v. 132, p. 580, 1984.
- FU, J. Y., MASFERRER, J. L., SEIBERT, K., RAZ, A., NEEDLEMAN, P. The induction and supression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. **J. Biol. Chem.**, v. 265, p. 16737-16740, 1990.
- GERSHWIN, M. E., GOETZL, E. J., STEINBERG, A. D. Cyclophosphamide: use in practice. **Ann. Intern. Med.**, v. 80, p. 531-540, 1974.
- GODEC, C. J., GLEICH, P. Intractable hematuria and formalin. **J. Urol.**, v. 130, p. 688, 1983.
- GOEL, A. K., RAO, M. S., BHAGWAT, A. G., VAIDYANATHAN, S., GOSWAMI, A. K., SEM, T. K. Intravesical irrigation with alum for the control of massive bladder hemorrhage. **J. Urol.**, v. 133, p. 956, 1985.

- GOLDFIEN, A. Adrenocorticosteroids & adrenocortical antagonists. In: KATZUNG, B. G. (Ed.). **Basic & clinical pharmacology**. 6th ed. 1995. chapt. 38, p. 592-607.
- GOLIN, A. L., BENSON, R. C. Cyclophosphamide hemorrhagic cystitis requiring urinary diversion. **J. Urol.**, v. 118, p. 110, 1977.
- GOMES, T. N. A., SANTOS, C. C., SOUZA-FILHO, M. V. P., CUNHA, F. Q. , RIBEIRO, R. A. Participation of TNF- α and IL-1 in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 28, p. 1103-1108, 1995.
- GOREN, M. P., HOULE, J. M., BUSH, D. A., LI, J. T., NEWMAN, C. E., BRADE, W. P. Similar bioavailability of single-dose oral and intravenous mesna in the blood and urine of healthy human subjects. **Clin. Cancer Res.**, v. 4, p. 2313-2320, 1998b.
- GOREN, M. P., HSU, L. C., LI, J. T. Reduction of dimesna to mesna by isolated perfuses rat liver. **Cancer Res.**, v. 58, p. 4358-4362, 1998a.
- GOREN, M. P., McKENNA, L. M., GOODMAN, T. L. Combined intravenous and oral mesna in outpatients treated with ifosfamide. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 40, p. 371-375, 1997.
- GOREN, M. P., PRATT, C. B., VIAR, M. J. Tubular nephrotoxicity during long-term ifosfamide and mesna therapy. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 25, p. 70-72, 1989.
- GOTTESMAN, J., EHRLICH, R. M. Preventing vesicoureteral reflux during intravesical formalin instillation. **Urology**, v. 3, p. 494, 1974.

- GOULDING, N. J., GODOLPHIN, J. I., SHARLAND, P. R., PEERS, S. H., SAMPSON, M., MADDISON, P. J., FLOWER, R. J. Anti-inflammatory lipocortin 1 production by peripheral blood leucocytes in response to hydrocortisone. **Lancet**, v. 335, n. 8703, p. 1416-1418, 1990.
- GRAY, K. J., ENGELMANN, U. H., JOHNSON, E. H., FISHMAN, I. J. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. **J. Urol.**, v. 133, p. 497, 1986.
- GRINGBERG-FUNES, D. J., SHELDON, C., WEISS, M. The use of prostaglandin F2 alpha for the prophylaxis of cyclophosphamide induced cystitis in rats. **J. Urol.**, v. 144, p. 1500-1504, 1990.
- GWEON, P., SHANBERG, A. Treatment of cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis with neodymium:YAG laser in pediatric patients. **J. Urol.**, v. 157, p. 2301-2302, 1997.
- HASELBERGER, M. B., SCHWINGHAMMER, T. L. Efficacy of mesna for the prevention of hemorrhagic cystitis after high-dose cyclophosphamide therapy. **Ann. Pharmacother.**, v. 29, p. 919-921, 1995.
- HASKELL, M. H. Drugs used in cancer chemotherapy. In: M. HASKELL, M. (Ed.) **Cancer treatment**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. chapt. 5, p. 44-51.
- HESKETH, P. J., HARVEY, W. H., HARKER, W. G., BECK, T. M., RYAN, T., BRICKER, I. J., KISH, J. A., MURPHY, W. K., HAINSWORTH, J. D., HARLEY, B. A randomized double-blind comparison of intravenous ondansetron alone and in combination with intravenous dexamethasone in the prevention of high-dose cisplatin-induced emesis. **J. Clin. Oncol.**, v. 12, p. 596, 1994.

- HIGGS, D., NAGY, C., EINHARN, L. H. Ifosfamide: a clinical review. **Semin. Oncol. Nurs.**, v. 5, p. 70-77, 1989.
- HOLSTEIN, P., JACOBSEN, K., PEDERSEN, J. F., SORENSEN, J. F. Intravesical hydrostatic pressure treatment: new method for control of bleeding from the bladder mucosa. **J. Urol.**, v. 109, p. 234, 1973.
- HOPKINS, H. A., BETSILL, W. L., HOBSON, A. S., LOONEY, W. B. Cyclophosphamide-induced cardiomyopathy in the rat. **Cancer Treat. Rep.**, v. 66, p. 1521-1527, 1982.
- HUNTER, H., HARRISON, E. The anti-cancer spectrum of ifosfamide. **Semin. Oncol.**, v. 9, p. 96-100, 1982.
- HUSKISSON, E. C. (Ed.) **Anti-rheumatic drugs**. New York:: Praeger Publishers, 1983.
- IALENTI, A., MONCADA, S., Di ROSA, M. Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 211, p. 177-182, 1992.
- INSEL, P. A. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: HARDMAN, J. C. et al. (Ed.) **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 9th ed. New York: McGraw Hill 1996. chapt. 27, p. 617-657.
- JOHNSON, W. W., MEADOWS, D. C. Urinary-bladder fibrosis and telangiectasis associated with long-term cyclophosphamide therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 84, p. 290, 1971.

- KAIJSER, G. P., KORST, A., BEIJNEN, J. H., BULT, A., UNDERBERG, W. J. M.
The analysis of ifosfamide and its metabolites (Review). **Anticancer Res.**, v. 13, p. 1311-1324, 1993.
- KALISH, M.; SILBER, S. J. & HERWIG, K. R. Papillary necrosis – results of intravesical instillation of formalin. **Urology**, 2: 315, 1973.
- KATZ, A., EPELMAN, S., ANELLI, A., GORENDER, E. F., CRUZ, S. M., OLIVEIRA, R. M., MARQUES, L. A. A prospective randomized evaluation of three schedules of mesna administration in patients receiving an ifosfamide-containing chemotherapy regimen: sustained efficiency and simplified administration. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 121, p. 128-131, 1995.
- KAVOUSSI, L. R., GELSTEIN, L. D., ADRIOLE, G. L. Encephalopathy and an elevated serum aluminum level in a patient receiving intravesical alum irrigation for severe urinary hemorrhage. **J. Urol.**, v. 136, p. 665, 1986.
- KERHARO, J., ADAM, J. G. (1974) apud VIANA, C.F.G., ARAGÃO Jr., A. G. M., RIBEIRO, R. A., MAGALHÃES, J. F. G. VALE, M. R. Effects of *Ageratum conyzoides* in nociception and inflammatory response induced by zymosan. **Fitoterapia**, v. 69, n. 4, p. 349-354, 1998.
- KOLB, N. S., HUNSAKER, L. A., JAGT, D. L. V. Aldose reductase-catalysed reduction of acrolein: implications in cyclophosphamide toxicity. **Mol. Pharmacol.**, v. 45, p. 797-801, 1994.
- KOSS, L. G. A light and electron microscopic study of the effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs in the rat. **Lab. Invest.**, v. 16, p. 44, 1967.

- KOSS, L.G. (1979) apud LEVINE, L. A., RICHIE, J. P. Urological complications of cyclophosphamide. **J. Urol.**, v. 41, p. 1063-1069, 1989.
- KUMAR, A. P. M., WRENN Jr., E. L., JAYALAKSHMAMMA, B., CONRAD, L., QUINN, P., COX, C. Silver nitrate irrigation to control bladder hemorrhage in children receiving cancer therapy. **J. Urol.**, v. 116, p. 85, 1976.
- KUROWSKI, V., WAGNER, T. Urinary excretion of ifosfamide, 4-hydroxyifosfamide, 3- and 2-dechloroethylifosfamide, mesna, and dimesna in patients on fractionated intravenous ifosfamide and concomitant mesna therapy. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 39, p. 431-439, 1997.
- LAPIDES, J. Treatment of delayed intractable hemorrhagic cystitis following radiation or chemotherapy. **J. Urol.**, v. 104, p. 707, 1970.
- LEE, F. Y. F. Glutathione diminishes the anti-tumor activity of 4-hydroperoxyifosfamide by stabilising its spontaneous breakdown to alkylating metabolites. **Br. J. Cancer**, v. 63, p. 45-50, 1991.
- LEVINE, L. A., RICHIE, J. P. Urological complications of cyclophosphamide. **J. Urol.**, v. 41, p. 1063-1069, 1989.
- LEVY, L., HARRIS, R. Effect of N-acetylcysteine on some aspects of cyclophosphamide-induced toxicity and immunosuppression. **Biochem. Pharmacol.**, v. 26, p. 1015, 1977.
- LIMA, M. A. S., SILVEIRA, E. R., MARQUES, M. S. L., SANTOS, R. H. A., GAMBARDELA, M. T. P. Biologically active flavonoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. **Phytochemistry**, v. 41, p. 217-223, 1996.

- LIND, M. J., MCGOWN, A. T., HADFIELD, J. A., THATCHER, N., CROWTHER, D., FOX, B. W. The effect of ifosfamide and its metabolites on intracellular glutathione levels in vitro and in vivo. **Biochem. Pharmacol.**, v. 38, p. 1835-1840, 1989.
- LIND, M. J., ROBERTS, H. L. Thatcher N and Idle JR: The effect of route of administration and fractionation of dose on the metabolism of ifosfamide. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 26, p. 105-111, 1990.
- LIU, Y. K., HARTY, J. I., STEINBOCK, G. S., HOLT Jr., H. A., GOLDSTEIN, D. H., AMIN, M. Treatment of radiation or cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis using conjugated estrogen. **J. Urol.**, v. 144, p. 41-43, 1990.
- LOEHRER, P. J. (Chairman). Ifosfamide. **Semin. Oncol.**, v. 17, suppl. 4, p. 1-79, 1990.
- LOW, J. E., BORCH, R. F., SLADEK, N. E. Further studies on the conversion of 4-hydroxyoxazaphosphorines to reactive mustards and acrolein in inorganic buffers. **Cancer Res.**, v. 43, p. 5815-5820, 1983.
- MAGALHÃES, J. F. G., VIANA, C. F. G., ARAGÃO JÚNIOR, A. G. M., MORAES, V. G., RIBEIRO, R. A., VALE, M. R. Analgesic and antiinflammatory activities of *Ageratum conyzoides* in rats. **Phytother. Res.**, v. 11, p. 183-188, 1997.
- MANCUSO, F., FLOWER, R. J., PERRETTI, M. Leukocyte transmigration, but not rolling or adhesion, is selectively inhibited by dexamethasone in the hamster post-capillary venule. **J. Immunol.**, v. 155, p. 377-386, 1995.
- MARKMAN, M., KENNEDY, A., WEBSTER, K., KULP, B., PETERSON, G., BELINSON, J. Continuous subcutaneous administration of mesna to prevent ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis. **Semin. Oncol.**, v. 23, p. 97-98, 1996.

- MARQUES NETO, J. F., COSTALAT, L. T. L., FERNANDES, S. R. M., NAPOLI, M. D. M., SAMARA, A. M. Efeitos do *Ageratum conyzoides*, Linnée no tratamento da artrose. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 28, p. 109-114, 1988.
- MARSH, F. P., VINCE, F. P., POLLOCK, D. J., BLANDY, J. P. Cyclophosphamide necrosis of bladder causing calcification, contracture and reflux: treated by colcystoplasty. **Br. J. Urol.**, v. 43, p. 324, 1971.
- MATOS, F. J. A. Mentrasto (erva-de-são-joão, catinga-de-bode) *Ageratum conyzoides* L. (Compositae). Em: **Farmácias Vivas**. 2^a ed. rev. e atual – Fortaleza: EUFC, p. 128-129, 1994.
- McGUIRE, E. J., WEISS, R. M., SCHIFF Jr., M., LYTTON, B. Hemorrhagic radiation cystitis: treatment. **Urology**, v. 3, p. 204, 1974.
- MEANWELL, C. A., BLAKE, A. E., KELLY, K. A., HONIGSBERGER, L., BLACKLEDGE, G. Prediction of ifosfamida/mesna associated encephalopathy. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, v. 22, p. 815-819, 1986.
- MENEZES, A. M. S. **Atividade anti-inflamatória e antiulcerogênica de *Astronium urundeuva* Engl.** Fortaleza, 1986. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará.
- MILLS, B. A., ROBERTS, R. W. Cyclophosphamide-induced cardiomyopathy: a report of two cases and review of the English literature. **Cancer**, v. 43, p. 2223-2226, 1979.
- MITCHELL, J. A., BELVISI, M. G., AKARASEREENONT, P., ROBBINS, R. A., KWON, O. J., CROXTALL, J. J., BARNES, P. J., VANE, J. R. Induction of cyclo-oxygenase-2 by cytokines in human pulmonary epithelial cells: regulation by dexamethasone. **Br. J. Pharmacol.**, v. 113, p. 1008-1014, 1994.

- MOHIUDDIN, J., PRENTICE, H. G., SCHEY, S., BLACKLOK, H., DANDONA, P.
Treatment of cyclophosphamide-induced cystitis with prostaglandin E2. **Ann. Intern. Med.**, v. 101, p. 142, 1984.
- MONTVALE, N. J. (1993) apud SAFRON, J., RICE, D., GORDON, D., LEAF, C., WHITE, R. Protective effect of L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate treatment on cyclophosphamide-induced cystitis in rats. **J. Urol.**, v. 157, p. 1946-1950, 1997.
- MURPHY, W. M. **Atlas of bladder carcinoma**. Chicago: American Society of Clinical Pathologists Press, pp. 96, 1986.
- MURPHY, W. M., MILLER, A. W. Cytology in the detection and follow-up of urothelial tumors. In: JAVADPOUR, N. (Ed.). **Bladder cancer**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. chap. . 8, p. 115-119.
- NELSON, R. L., ALLEN, L. M., CREAVER, P. J. Pharmacokinetics of divided-dose ifosfamide. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 19, p. 365-370, 1976.
- NEWELL, D. R., GORE, M. E. Toxicity of alkylating agents: clinical characteristics and pharmacokinetic determinants. In: POWIS, G., HACKER, M. P. (Eds) **Toxicity of anticancer drugs**, New York: Pergamon Press, 1991. p. 44-62
- NOE, H. N., McSWAIN, H. M. Management of severe reflux in the patient with cyclophosphamide cystitis. **J. Urol.**, v. 130, p. 769, 1983.
- O'CONNEL, T. X., BERENBAUM, M. C. Cardiac and pulmonary effects of high doses of cyclophosphamide and isophosphamide. **Cancer Res.**, v. 34, p. 1586-1591, 1974.

- OST, L., LONNQVIST, B., ERIKSSON, L., LJUNGMAN, P., RINGDEN, O. Hemorrhagic cystitis – a manifestation of graft versus host disease? **Bone Marrow Transplant.**, v. 2, p. 19, 1987.
- PAIRET, M., CHURCHILL, L., ENGELHARDT, G. (1996) apud PAIRET, M., VAN RYN, J., DISTEL, M. Overview of COX-2 in inflammation: from the biology to the clinic. In: WILLOUGHBY, D. A., TOMLINSON A. (Eds). **Inducible enzymes in the inflammatory response**. Boston: Basel, 1999. p. 1-30.
- PAIRET, M., CHURCHILL, L., TRUMMLITZ, G., ENGELHARDT, G. Differential inhibition of cyclooxygenase-1 (COX-1) and -2 (COX-2) by NSAIDs: consequences on anti-inflammatory activity versus gastric and renal safety. **Inflammopharmacology**, v. 4, p. 61-70, 1996.
- PAIRET, M., VAN RYN, J., DISTEL, M. Overview of COX-2 in inflammation: from the biology to the clinic. In: WILLOUGHBY, D. A., TOMLINSON A. (Eds). **Inducible enzymes in the inflammatory response**. Boston: Basel, 1999. p. 1-30.
- PARNHAM, M. (1997) apud PAIRET, M., VAN RYN, J., DISTEL, M. Overview of COX-2 in inflammation: from the biology to the clinic. In: WILLOUGHBY, D. A., TOMLINSON A. (Eds). **Inducible enzymes in the inflammatory response**. Boston: Basel, 1999. p. 1-30.
- PATEL, A. R., SHAH, P. C., RHEE, H. L., SASSOON, H., RAO, K. P. Cyclophosphamide therapy and interstitial pulmonary fibrosis. **Cancer**, v. 38, p. 1542-1549, 1976.
- PHILIPS, F. S., STERNBERG, S. S., CRONIN, A. P., VIDAL, P. M. Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. **Cancer Res.**, v. 21, p. 1577-1589, 1961.

- POHL, J. The toxicology, pharmacokinetics and interactions of uromitexan. In: BURKERT, H., NAGEL, G. A. (Eds.) **New experience with the oxazaphosphorines with special reference to the uroprotector uromitexan.** Basel: Karger, 1981. p. 12.
- PRIMACK, A. Amelioration of cyclophosphamide-induced cystitis. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 47, p. 223, 1971.
- PYERITZ, R. E., DROLLER, M. J., BENDER, W. L., SARAL, R. An approach to the control of massive hemorrhage in cyclophosphamide-induced cystitis by intravenous vasopressin: a case report. **J. Urol.**, v. 120, p. 253, 1978.
- RAINSFORD, K. O. (Ed.) **Inflammation mechanisms and actions of traditional drugs.** Boca Raton, FL: CRC Press, 1985. v. 1: Anti-Inflammatory and anti-rheumatic drugs.
- RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. O sistema endócrino. In: RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. **Farmacologia.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. chap. 21, p. 332-361. 1997.
- RAO, V. S. N., FIGUEREDO, E. G., MELO, C. L., VIANA, G. S. B., MENEZES, D. B., MATOS, M. S. F., SILVEIRA, E. R. Protective effect of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. In experimental liver injury. **Pharmacology**, v. 48, p. 392-397, 1994.
- RAO, V. S. N., SANTOS, F. A., SOBREIRA, T. T., SOUZA, M. F., MELO, C. L., SILVEIRA, E. R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Méd.**, v. 63, p. 146-149, 1997.

- RATLIFF, T. R., WILLIAMS, R. D. Editorial: Hemorrhagic cystitis, chemotherapy, and bladder toxicity, **J. Urol.**, v. 159, p. 044, 1998.
- RENERT, W. A., BERDON, W. E., BAKER, D. H. Hemorrhagic cystitis and vesicoureteral reflux secondary to cytotoxic therapy for childhood malignancies. **Amer. J. Roentgenol.**, v. 117, p. 664, 1973.
- REYNOLDS, R. D., SIMMERVILLE, J. J., O'HARA, D. D., HART, J. B., PARKINSON, J. E. Hemorrhagic cystitis due to cyclophosphamide. **J. Urol.**, v. 101, p. 45, 1969.
- RIBEIRO, R. A., FREITAS, H. C., CAMPOS, M. C., SANTOS, C. C., BRITO, G. A. C., FIGUEIREDO, F., CUNHA, F. Q. Tumour necrosis factor- α and interleukin- 1β mediates the production of nitric oxide involved in the pathogenesis of ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis in mice. **J. Urol.**, 2000. Submetido.
- RIBEIRO, R. A., SOUZA-FILHO, M. V. P., SANTOS, C. C., LIMA, M. V. A., LIMA, M. M. P., BALLEJO, G., CUNHA, F. Q. Involvement of nitric oxide and tumor necrosis factor in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. In: INTERNATIONAL CANCER CONGRESS, 17., Italy, 1998. **Proceedings**, p. 227-231.
- ROCHA, F. A. C., OLIVEIRA, K. R. B. Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in SLE. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 37, p. 89-92, 1997.
- RODIN, A. E., HAGGARD, M. E., TRAVIS, L. B. Lung changes and chemotherapeutic agents in childhood. **Am. J. Dis. Child.**, v. 120, p. 337-340, 1970.
- RUBIN, J. S. & RUBIN, R. T. Cyclophosphamide hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, **96**: 313, 1966.

- SAFRON, J., RICE, D., GORDON, D., LEAF, C., WHITE, R. Protective effect of L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate treatment on cyclophosphamide-induced cystitis in rats. **J. Urol.**, v. 157, p. 1946-1950, 1997.
- SANTOS, G. W., SENSENBRENNER, L., BURKE, P. J., COLVIN, M., OWNEN Jr., A. H., BIAS, W. B., SLAVIN, R. E. Marrow transplantation in man following cyclophosphamide. **Transplant. Proc.**, v. 3, p. 400-404, 1971.
- SAROSY, G. Ifosfamide – Pharmacologic overview. **Semin. Oncol.**, v. 16, p. 2-8, 1989.
- SCHEEF, W. P. Problems, experience and results of clinical investigations with ifosfamide. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CHEMOTHERAPY, 7., Prague, 1971. **Proceedings.**
- SCHEEF, W., KLEIN, H. O., BROCK, N., BURKERT, H., GUNTHER, U., HOEFER-JANKER, H., MITRENGA, D., SCHNITKER, J., VOIGTMANN, R. Controlled clinical studies with an antidote against the urotoxicity of oxazaphosphorines: preliminary results. **Cancer Treat. Rep.**, v. 63, p. 501, 1979.
- SCHEINMAN, R. I., COGSWELL, P. C., LOFQUIST, A. K., BALDWIN, Jr., A. S. Role of transcriptional activation of $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. **Science**, v. 270, p. 283-286, 1995.
- SCHLEIMER, R. P. Effects of glucocorticoids on inflammatory cells relevant to their therapeutic applications in asthma. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 141, p. 59-69, 1990.
- SCHMITZ, G., GROSS, R. Erste klinische erfahrungen mit ultrahohen einzeldosen von cyclophosphamid. **Med. Welt.**, v. 16, p. 985, 1967.

- SENCER, S. F., HAAKE, R. J., WEISDORF, D. J. Hemorrhagic cystitis after bone marrow transplantation. **Transplantation**, v. 56, p. 875-879, 1993.
- SHAW, I. C. , GRAHAM, M. I. Mesna – a short review. **Cancer Treat. Rev.**, v. 14, p. 67-86, 1987.
- SHEPHERD, J. D., PRINGLE, L. E., BARNETT, M. J., KLINGEMANN, H-G., REECE, D. E., PHILLIPS, G. L. Mesna versus hyperhydration for the prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation. **J. Clin. Oncol.**, v. 9, p. 2016, 1991.
- SHROM, S. H., DONALDSON, M. H., DUCKETT, J. W., WEIN, A. J. Formalin treatment for intractable hemorrhagic cystitis. A review of the literature with 16 additional cases. **Cancer**, v. 38, p. 1785, 1976.
- SHURFA, M., SHUMAKER, E., CRONIN, S. Prostaglandin F₂-alpha bladder irrigation for control of intractable cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 137, p. 1230, 1987.
- SIDAU, B., SHAW, I. C. Determination of sodium 2-mercaptoethanesulfonate by high-performance liquid chromatography using post-column reaction colorimetry or electrochemical detection. **J. Chromatogr.**, v. 311, p. 234, 1984.
- SILVA, M. J. M., VALE, M. R. Perfil farmacológico do extrato hidrossolúvel de *Ageratum conyzoides* sobre a musculatura lise: proposta de mecanismo de ação. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 6., Caxambú, 1991. **Resumos...** p. 296.
- SKINNER, R., SHARKEY, I. M., PEARSON A. D. J., CRAFT, A. W. Ifosfamide, mesna and nephrotoxicity in children. **J. Clin. Oncol.**, v. 11, p. 173-190, 1993.

- SLADEK, N. E. Oxazaphosphorines. In: POWIS, G., PROUGH, R. A. (Eds.) **Metabolism and action of anticancer drugs** New York:: Taylor & Francis, 1987. p. 48-90.
- SOUZA, M. F. **Atividade Anti-inflamatória, antitrombótica e anti-anafilática da ternatina, um novo flavonóide de *Egletes viscosa* Less.** Fortaleza, 1993. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)- Universidade Federal do Ceará.
- SOUZA, M. F. **Investigação das ações antiinflamatórias da ternatina: Um estudo experimental.** Fortaleza, 1998. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará.
- SOUZA, M. F., CUNHA, G. M. A., FONTENELE, J. B., VIANA, G. S. B., RAO, V. S. N., SILVEIRA, E. R. Antithrombotic activity of ternatin, a tetramethoxy flavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytoter. Res.**, v. 8, p. 478-481, 1994.
- SOUZA, M. F., RAO, V. S. N., SILVEIRA, E. R. Antiinflammatory and antianaphylactic effects of ternatin, a flavanoid isolated from *Egletes viscosa* Less. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 25, p. 1029-1032, 1992.
- SOUZA-FILHO, M. V. P., LIMA, M. V. A., POMPEU, M. M. L., BALLEJO, G., CUNHA, F. Q., RIBEIRO, R. A. Involvement of nitric oxide in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. **Am. J. Pathol.**, v. 150, p. 247-256, 1997.
- SPECHTER, H. J., BAUER, K. M., MULLER, O., TRAUT, H. Folgen am Harnbereitenden und Harnableitenden System während Cyclophosphamidtherapie. **Dtsch. Med. Wochenschr.**, v. 90, p. 1458, 1965.
- STILLWELL, T. J., BENSON, R. C. Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. A review of 100 patients. **Cancer**, v. 61, p. 451-457, 1988.

- SUSAN, L. P., MARSH, R. J. Phenolization of bladder in treatment of massive intractable hematuria. **Urology**, v. 5, p. 119, 1975.
- SWINYARD, E. A., PATHAK, M. A. Surface-acting drugs. In: GILMAN, G., GOODMAN, L. S. (Eds.) **Pharmacological Bases of Therapeutics**. 6th ed. New York: MacMillan, 1980. sect. 10, chapt. 40, p. 954.
- SZABO, C. Regulation of the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase by glucocorticoids. **Ann. N. Y. Acad. Sci. USA**, v. 851, p. 336, 1998.
- TOLEDO, T. M., HARPER, R. C., MOSSER, R. H. Fetal effects during cyclophosphamide and irradiation therapy. **Ann. Intern. Med.**, v. 74, p. 87-91, 1971.
- TOLLEY, D. A. The effect of N-acetyl cysteine on cyclophosphamide cystitis. **Br. Urol.**, v. 49, p. 659, 1977.
- TRIGG, M. E., O'REILLY, J., RUMELHART, S., MORGAN, D., HOLIDA, M., DEALACRON, P. Prostaglandin bladder instillations to control severe hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 143, p. 92-94, 1990.
- UEDA, S., YOSHIBA, M., YANO, S., MUTOH, S., IKEGAMI, K., SAKANASHI, M. Comparison of the effects of primary prostaglandins on isolated human urinary bladder. **J. Urol.**, v. 133, p. 144, 1985.
- ULICH, T. R., WHITCOMB, L., TANG, W., TRESSEL, P. O., TARPLEY, J., YI, E. S., LACEY, D. Keratinocyte growth factor ameliorates cyclophosphamide-induced ulcerative hemorrhagic cystitis. **Cancer Res.**, v. 57, p. 472-475, 1997.

- VAN DYK, J. J.; FALKSON, H. C.; VAN DER MERWE, A. M.; FALKSON, G. Unexpected toxicity in patients receiving ifosfamide. **Cancer Res.**, **34**:921-924, 1972.
- VAN RYN, J., PAIRET, M. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: pharmacology, clinical effects and therapeutic potential. **Exp. Opin. Invest. Drugs**, v. 6, p. 609-614, 1997.
- VANE, J. R. Towards a better aspirin. **Nature**, v. 367, p. 215-216, 1994.
- VIANA, C. F. G., ARAGÃO JÚNIOR, A. G. M., RIBEIRO, R. A., MAGALHÃES, J. F. C., VALE, M. R. Effects of *Ageratum conyzoides* in nociception and inflammatory response induced by zymosan. **Fitoterapia**, v. 69, n. 4, p. 349-354, 1998.
- VIANA, G. S. B., BANDEIRA, M. A. M., MOURA, L.C., SOUZA-FILHO, M. V. P., MATOS, F. J. A., RIBEIRO, R. A. Analgesic and antiinflammatory effects of the tannin fraction from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Phyther. Res.**, v. 11, p. 118-122, 1997.
- VIANA, G. S. B., MATOS, F. J. A., BANDEIRA, M. A. M., RAO, V. N. **Aroeira-do-Sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). Estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico.** Fortaleza; Ed. UFC, 1994. 187p.
- VIANA, G. S. B., MATOS, F. J. A., BANDEIRA, M. A. M., RAO, V. N. **Aroeira-do-Sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). Estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico.** Fortaleza, Ed. UFC, 1995. p.160.

- WAGNER, T. Ifosfamide clinical pharmacokinetics. **Clin. Pharmacokinet**, v. 26, p. 439-456, 1994.
- WAGNER, T., HEYDRICH, D., JORK, T., VOELKER, G., HOHORST, H. J. Comparative study on human pharmacokinetics of activated ifosfamide and cyclophosphamide by a modified fluorometric test. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 100, p. 95, 1981.
- WALKER, R. D. Editorial: Cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis. **J. Urol.**, v. 161, n.6, p. 1747, 1999.
- WALTHER, M. M. Cystitis. In: DE VITA, V. T., HELLMAN, S., ROSENBERG, S. A. (Eds). **Cancer. Principles and practice of oncology**. Philadelphia: JB Lippincott, 1993. p. 2358-2362
- WATSON, N. A., NOTLEY, R. G. Urological complications of cyclophosphamide. **Br. J. Urol.**, v. 45, p. 606, 1973.
- WEST, N. J. Prevention and treatment of hemorrhagic cystitis. **Pharmacotherapy**, v. 17, p. 696-706, 1997.
- YEN, C. C., HSIEH, R. K., CHIOU, T. J., LIU, J. H., FANG, F. S., WANG, W. S., TUNG, S. L., TZENG, C. H., CHEN, P. M. Navoban (Tropisetron, ICS 205-930) and dexamethasone combination in the prevention of vomiting for patients receiving preconditioning high-dose chemotherapy before marrow transplantation. **Jpn. J. Clin. Oncol.**, v. 28, p. 129-133, 1998.
- ZALUPSKI, M., BAKER, L. H. Ifosfamide. **J. Nat. Cancer Inst.**, v. 80, p. 556, 1988.

7 PUBLICAÇÃO

Pharmacological and histopathological study of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis - comparison of the effects of dexamethasone and Mesna

M.M. Morais¹,
J.N. Belarmino-Filho¹,
G.A.C. Brito² and
R.A. Ribeiro¹

Departamentos de ¹Fisiologia e Farmacologia, and
²Morfologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará,
Fortaleza, CE, Brasil

Abstract

Chemotherapy with oxazaphosphorines, such as cyclophosphamide (CYP), is often limited by unacceptable urotoxicity. Without uroprotection, hemorrhagic cystitis (HC) becomes dose-limiting. To compare the uroprotective efficacy of classical 2-mercaptoethanesulfonic acid (Mesna) treatment with dexamethasone in CYP-induced HC, male Wistar rats (150-200 g; N = 6 in each group) were treated with saline or Mesna (40 mg/kg, *ip*) immediately and 4 and 8 h after *ip* administration of CYP (200 mg/kg). One, 2 or 3 doses of Mesna were replaced with dexamethasone (1 mg/kg, *ip*). The animals were sacrificed 24 h later. Cystitis was evaluated by determining the changes in bladder wet weight (BWW) and by macroscopic and microscopic analysis. CYP treatment induced a marked increase in BWW (162%, $P < 0.05$), which was significantly inhibited by treatment with 3 doses of Mesna ($P < 0.05$; 80%). The replacement of 1 or 2 doses of Mesna with dexamethasone reduced the increase in BWW by 83.3 and 95%, respectively. Macroscopic analysis of the bladder of rats with CYP-induced HC showed severe edema and hemorrhage, confirmed by microscopic analysis, that also showed mucosal erosion, inflammatory cell infiltration and ulcerations. The replacement of 1 or 2 doses of Mesna with dexamethasone inhibited the CYP-induced increase in BWW and almost abolished the macroscopic and microscopic alterations, with no significant difference between the effects of Mesna and dexamethasone, indicating that both drugs were efficient in blocking HC. However, although the replacement of all Mesna doses with dexamethasone reduced the edema, it did not prevent HC, suggesting that Mesna is necessary for the initial uroprotection.

Key words

- Cyclophosphamide
- Hemorrhagic cystitis
- Dexamethasone
- Mesna

Address

Departamento de Fisiologia e
Farmacologia,
Faculdade de Medicina, UFC
Avenida Desembargador
Ferreira de Melo, 1127
Fortaleza, CE

Phone: 35-243-9333
E-mail: rly@fortalnet.com.br

Received April 13, 1999
Accepted August 11, 1999

Cyclophosphamide (CYP), a cytotoxic alkylating agent, is used in chemotherapeutic regimens of lymphoproliferative disorders, certain solid tumors, and non-neoplastic diseases such as nephrotic syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid

arthritis (1). Hemorrhagic cystitis is a known adverse effect of this drug and may be the limiting factor in its use (2,3). In the absence of adequate uroprotection, the incidence of this side effect of CYP therapy varies from 2 to 40% in patients taking low doses of CYP

on a long-term basis (4). Mortality has been reported to be 2 to 4% in patients with massive hemorrhage, who were treated with a high dose of intravenous CYP (5). The cause of bladder damage appears to be related to acrolein, a urotoxic metabolite of CYP. It has been proposed that urothelial damage occurs by direct contact with acrolein, which causes edema, ulceration, neovascularization, hemorrhage, and necrosis (6).

Mesna (2-mercaptoethanesulfonic acid), a thiol compound, entered clinical trials as a systemic uroprotective agent in the late 1970s, becoming the drug of choice for this purpose within a short period of time (7). The administration of systemic Mesna results in regional detoxication of the urinary system (8,9). The interaction between acrolein and Mesna results in an inactive compound (10). Thus, Mesna is indicated to prevent the occurrence of hemorrhagic cystitis, but is not effective when the lesion has been established.

Over the last few years, our laboratory has been dedicated to the study of inflammatory mediators involved in the pathogenesis of experimental cyclophosphamide and ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis. We demonstrated that cytokines like TNF- α and IL-1 were crucial mediators involved in these inflammatory events and also in urothelial damage and hemorrhage (11). An important contribution to this issue by our group was our recent demonstration that nitric oxide (NO) is the final mediator of urothelial damage and hemorrhage in cystitis (12). In addition, we have demonstrated that the administration of whole anti-TNF- α serum significantly decreased the CYP-induced vesical edema as well as the rise in inducible NOS activity. The induction of NOS in the inflamed bladder appears to require the action of TNF- α and platelet-activating factor (PAF) (11,12).

Glucocorticoids are potent inhibitors of the synthesis of cytokines like TNF- α and IL-1, PAF and NOS-inducible expression (13). Thus, the aim of the present study was to investigate the effects of dexamethasone in

CYP-induced hemorrhagic cystitis and thus propose an alternative posologic regimen of lower cost compared to the use of Mesna in the prevention of this type of cystitis.

Six groups of six male Wistar rats weighing 150-200 g were used in the experiments. The animals were kept in appropriate boxes with water and food *ad libitum*. The animals received an *ip* injection of saline or CYP (Genuxal[®], 200 mg/kg; Asta Medica, AG Frankfurt, Germany) and were then treated with saline or Mesna (Mitexan[®]200, 40 mg/kg, *ip*; Asta Medica) at the same time and 4 and 8 h after CYP. In the other experimental groups, 1, 2 or 3 doses of Mesna were replaced with dexamethasone (Decadron[®], 1 mg/kg, *ip*; Prodrome Química & Farmacêutica Ltda., São Paulo, SP, Brazil). The animals were sacrificed 24 h after the administration of cyclophosphamide and their bladders were removed by careful dissection.

Bladders were excised, freed from surrounding connective tissue, and examined grossly for edema and hemorrhage. Histological examination was performed by a pathologist in a single-blind fashion. Edema, bleeding, and histological changes were evaluated according to the criteria of Gray et al. (14) as follows: edema was considered severe (3+) when fluid was seen externally and internally on the walls of the bladder, moderate (2+) when confined to the internal mucosa, mild (1+) when normal to moderate, and absent (0). Hemorrhage was scored as follows: 3+, intravesical clots; 2+, mucosal hematomas; 1+, telangiectasia or dilatation of the bladder vessels; 0, normal. Histopathology was scored as follows: 0, normal epithelium and absence of inflammatory cell infiltration and ulceration; 1, mild changes involving reduction of epithelial cells, flattening with submucosal edema, mild hemorrhage, and few ulcerations; 2, severe changes including mucosal erosion, inflammatory cell infiltration, fibrin deposition, hemorrhage, and multiple ulcerations.

Bladder wet weight (reported as the mean

4/100 g body weight) and macroscopic and microscopic observations (reported as means and range) of the bladders were used to evaluate the effects of the drugs. For analysis of bladder wet weight, data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni's test. For macroscopic and microscopic analysis, we used Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests to compare medians. P<0.05 was considered significant.

Intraperitoneal injection of CYP (200 mg/kg) induced a marked increase in bladder wet weight eight 24 h after its administration (162% compared to control group, P<0.05). CYP-induced increase in bladder wet weight was significantly inhibited by treatment of rats with 3 doses of Mesna (80% reduction), as well as by the replacement of 1 or 2 doses of Mesna with dexamethasone (83.3 and 95% reduction, respectively) (Figure 1). There was no significant difference between the results of these 3 different approaches. However, the replacement of all Mesna doses with dexamethasone did not prevent the increase in bladder wet weight.

The cystitis observed 24 h after CYP administration was characterized macroscopically by the presence of severe edema, receiving a score of 3 (2-3), and by marked hemorrhage, mucosal hematomas and intravesical edema, receiving a score of 3 (2-3), being significantly (P<0.05) different from the control group which received a score of 0 (0-0) for edema and hemorrhage. Treatment with Mesna alone or in combination with 1 or 2 doses of dexamethasone, but not dexamethasone alone, significantly reduced the intensity of cystitis (P<0.05), as indicated by the results in Table 1.

According to Gray's histopathological data, 24 h after CYP administration there was histological evidence of cystitis: extensive mucosal erosion with ulceration, fibrin deposition, hemorrhage, edema, and leuko-infiltration, receiving a score of 2 (2-2) (Figure 2B). These alterations were almost

abolished (P<0.05) by the replacement of 1 or 2 doses of Mesna with dexamethasone in the CYP-induced hemorrhagic cystitis, with results similar to those obtained with 3 doses of Mesna (Figure 2C and D). The scores of Gray's parameters (median and range) are shown in Table 1.

In the present study we present evidence

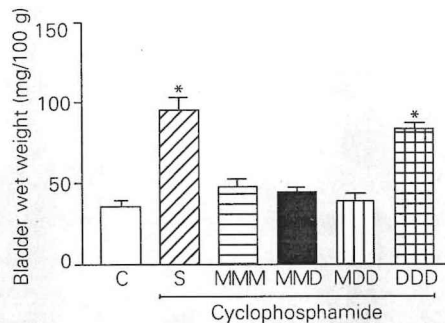


Figure 1 - Effect of different treatments of dexamethasone on bladder wet weight in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. Cyclophosphamide (200 mg/kg)-induced increase in bladder wet weight was measured 24 h after the induction of cystitis in vehicle (saline, S-), or Mesna-treated animals (MMM - 3 doses of Mesna at 5 min before and 4 and 8 h after), Mesna + dexamethasone-treated animals (MMD - 2 doses of Mesna at 5 min before and 4 h after and 1 dose of dexamethasone at 8 h after; MDD - 1 dose of Mesna at 5 min before and 2 doses of dexamethasone 4 and 8 h after) and dexamethasone-treated animals (DDD - 3 doses of dexamethasone at 5 min before and 4 and 8 h after). The results are reported as means ± SEM (N = 6). *P<0.05 compared to control group (C, treated with saline alone) by ANOVA and Bonferroni's tests.

Table 1 - Macroscopic and microscopic analysis of the effects of dexamethasone in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis.

Cyclophosphamide (200 mg/kg, ip)-induced macroscopic and microscopic alterations were evaluated 24 h after its administration in vehicle (saline, S-), or Mesna-treated animals (MMM - 3 doses of Mesna at 5 min before and 4 and 8 h after), Mesna + dexamethasone-treated animals (MMD - 2 doses of Mesna at 5 min before and 4 h after and 1 dose of dexamethasone at 8 h after; MDD - 1 dose of Mesna at 5 min before and 2 doses of dexamethasone 4 and 8 h after) and dexamethasone-treated animals (DDD - 3 doses of dexamethasone at 5 min before and 4 and 8 h after). The results are reported as median and range (N = 6). *P<0.05 compared to the control group (C, treated with saline alone) by Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests.

Groups	Macroscopic analysis (edema)	Macroscopic analysis (hemorrhage)	Microscopic analysis
C	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
S	3 (2-3)*	3 (2-3)*	2 (2-2)*
MMM	0 (0-1)	0 (0-2)	0.5 (0-1)
MMD	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)
MDD	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
DDD	1 (0-3)*	1 (1-3)*	2 (1-2)*

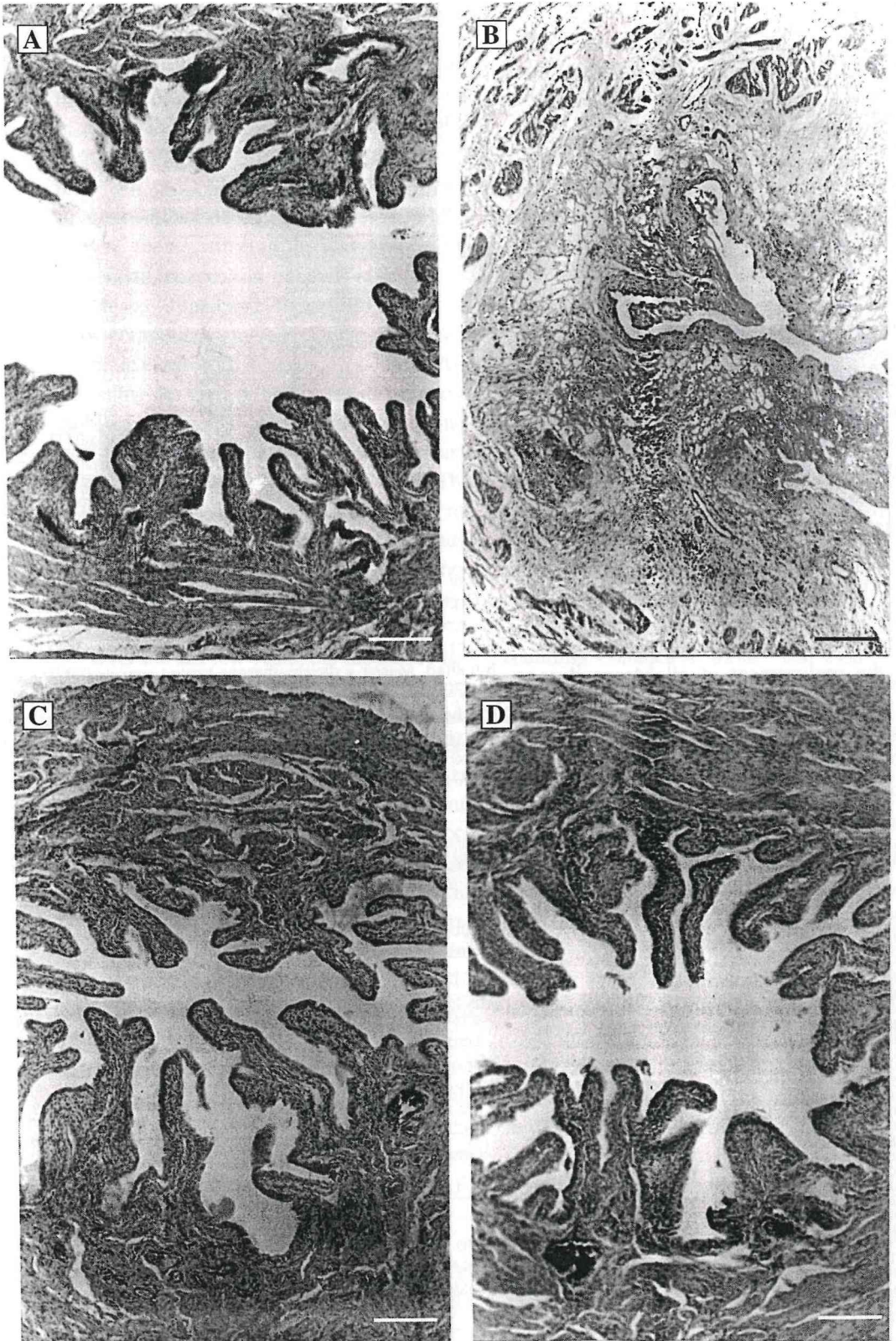


Figure 2 - Histological analysis of representative bladder bladders in cross section. A, Normal bladder. B, Cystitis in a rat treated 24 h previously with cyclophosphamide (200 mg/kg, *ip*). Intense urothelial damage, edema, leukocyte infiltration, hemorrhage and fibrin deposition. C, Bladder bladders treated with 3 doses of Mesna (20% of cyclophosphamide dose, 40 mg/kg, *ip*). Urothelium preservation and absence of edema, hemorrhage, leukocyte infiltration and ulcerations. D, Bladder of rat treated with 1 dose of Mesna and 2 doses of dexamethasone (1 mg/kg, *ip*). Absence of microscopic alterations, comparable to the treatment with 3 doses of Mesna. Hematoxylin-eosin, 100x. Bar, 250 μ m.

g that dexamethasone could be a useful when combined with Mesna in the management of CYP-induced hemorrhagic cystitis. In agreement with these data, recently reported that patients using corticosteroid as an immunosuppressor, combined with cyclophosphamide in the treatment of systemic lupus erythematosus, have a low rate of hemorrhagic cystitis (15). Previous data from our laboratory have indicated that cytokines like TNF- α , IL-1 and PAF were crucial mediators in these inflammatory events and in the urothelial damage and hemorrhage. Thus, the present results showing that dexamethasone inhibits CYP-induced hemorrhagic cystitis could be explained by the effect of the corticoid as an inhibitor of the synthesis of cytokines like TNF- α and

IL-1, PAF and of NOS-inducible expression. It is important to note that Mesna seems to be necessary for the initial uroprotection through its neutralizing effect on urothelial damage initiated by acrolein, while dexamethasone may be inhibiting the mediators of the inflammatory process that follows.

The advantage of this alternative posologic regimen is lower cost and the fact that dexamethasone is already routinely used as a standard component of antiemetic regimens for numerous cancer chemotherapy protocols (16) and as an immunosuppressor in autoimmune diseases like systemic lupus erythematosus (15). Thus, dexamethasone could be tested in clinical trials as a substitute of the two last doses of Mesna for the inhibition of CYP-induced hemorrhagic cystitis.

References

1. Breschi P & Chabner BA (1992). Antineoplastic agents. In: Gilman AF, Rall TW, Nuss AS & Taylor P (Editors), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6th edn. McGraw-Hill, Singapore.
2. Howell TJ & Benson RC (1988). Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis: A review of 100 patients. *Cancer*, 61: 447-457.
3. Lips FS, Sternberg SS, Cronin AP & Hill PM (1961). Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. *Cancer Research*, 21: 1577-1589.
4. D'Amico BSI & Hess EV (1976). Urinary bladder complications with cyclophosphamide therapy. *Archives of Internal Medicine*, 126: 616-625.
5. Koc O, Tomur A, Deveci S, Piskin I & Ozkan M (1997). Comparison of the uroprotective efficacy of Mesna and HBO treatments in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Journal of Urology*, 158: 2296-2299.
6. Koc O, Piskin I (1979). Cyclophosphamide cystitis: Identification of acrolein as the causative agent. *Biochemical Pharmacology*, 28: 15-2049.
7. Koc O, Epelman S, Anelli A, Gorender EF, Koc O, Oliveira RM & Marques LA (1995). A prospective randomized evaluation of three schedules of Mesna administration in patients receiving an ifosfamide-containing chemotherapy regimen: sustained efficiency and simplified administration. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 121: 128-131.
8. Elias AD, Eder JP, Shea T, Begg CB, Frei 3rd E & Antman KH (1990). High dose ifosfamide with Mesna uroprotection: a phase I study. *Journal of Clinical Oncology*, 8: 170-178.
9. Scheulen ME, Niederle N, Bremer K, Schutte J & Seeber S (1983). Efficacy of ifosfamide in refractory malignant diseases and uroprotection by Mesna: results of a clinical phase II study with 151 patients. *Cancer Treatment Reviews*, 10: 93-101.
10. Wagner T (1994). Ifosfamide clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, 26: 439-456.
11. Gomes TNA, Santos CC, Souza-Filho MVP, Cunha FQ & Ribeiro RA (1995). Participation of TNF- α and IL-1 in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 28: 1103-1108.
12. Souza-Filho MVP, Lima MVA, Pompeu MML, Ballejo G, Cunha FQ & Ribeiro RA (1997). Involvement of nitric oxide in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *American Journal of Pathology*, 150: 247-256.
13. Ribeiro RA, Souza-Filho MVP, Santos CC, Lima MVA, Pompeu MML, Ballejo G & Cunha FQ (1998). Involvement of nitric oxide and tumor necrosis factor in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. In: Moraes M, Brentani R & Bevilacqua R (Editors), *Proceedings of the 17th International Cancer Congress*. Monduzzi Editore, Bologna, Italy, 227-231.
14. Gray KJ, Engelmann UH, Johnson EH & Fishman IJ (1986). Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. *Journal of Urology*, 133: 497-500.
15. Rocha FAC & Oliveira KRB (1997). Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in SLE. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 37: 89-92.
16. Hesketh PJ, Harvey WH, Harker WG, Beck TM, Ryan T, Bricker IJ, Kish JA, Murphy WK, Hainsworth JD & Haley B (1994). A randomized double-blind comparison of intravenous ondansetron alone and in combination with intravenous dexamethasone in the prevention of high-dose cisplatin-induced emesis. *Journal of Clinical Oncology*, 12: 596-600.

THE NOVARTIS FOUNDATION BURSARY SCHEME

INTRODUCTION

The Novartis Foundation bursary scheme is linked to the Novartis Foundation symposia. This scheme enables one young scientist to attend a Novartis Foundation symposium (in London except where otherwise specified) and immediately following the meeting to spend a period in the laboratory of one of the participants.

DURATION AND FORMAT

The bursary is granted for a period of up to three months which includes travel, attendance at a Novartis symposium and from four to twelve weeks visiting a participant's laboratory. The actual period will be agreed between the host and bursar.

BURSARS

Bursars must be aged 23-35 and **actively engaged** in research in the field in question. They should not already have accepted an invitation to participate in that symposium. Successful candidates are expected to submit a short report following their return home.

PROCEDURE

Making the bursaries known: The availability of the bursaries is advertised by circular to overseas members of the Foundation's Scientific Advisory Panel, to invited symposiasts and by an advertisement in *Nature*, or other journal if more appropriate. Bursaries are advertised every 3-6 months, and at least six months before the date of the relevant meeting.

Applying: We do not issue application forms. Written applications should be made to the Bursary Scheme Administrator at the Novartis Foundation, including the following information:

- Full name, address, birthdate
- Title of symposium for which applying
- Qualifications and short resumé of further education
- Career history, including full list of publications
- Full details of current research
- Aims of future career
- Name & address of two referees

Selection of the bursar: This is made by the Foundation's senior staff, usually around four months before the symposium.

Which laboratory/department? Offers to host a bursar are sought from symposiasts at the time of invitation to the symposium. The successful bursar is asked to select three names from the membership list of the symposium and every effort is made by the Novartis Foundation to accommodate the bursar's choice.

VALUE OF THE BURSARY

The bursary covers the following:

- All the bursar's travel expenses using the cheapest, most practicable and direct means of travel (i.e. economy class fares using APEX fares whenever possible).
- Bed and breakfast accommodation during the symposium week, with an allowance for meals.

Board and lodging during the candidate's visit to the host laboratory. It is expected that the bursar will be able to stay in university accommodation or, if that is not available, in a modestly priced hotel.

CONTACT

Novartis Foundation Bursary Scheme Administrator, 41 Portland Place, London WIN 4BN, UK. E-mail: bursary@novartisfound.org.uk