

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS NA PROFILAXIA DA MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR IRINOTECANO (CPT-11).

Rayanne Pacheco Muniz¹; Rafael Matos Ximenes²

¹Estudante do Curso de Ciências Biológicas- Licenciatura- CCB – UFPE; E-mail: rpmuniz7@gmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Antibióticos– CCB –UFPE. E-mail: docente@provedor.

Sumário: Neste estudo foram avaliados os efeitos da administração de prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção da mucosite intestinal e diarreia tardia induzida pela administração de irinotecano (CPT-11) em camundongos. Foram utilizados camundongos Swiss machos e fêmeas entre 8 e 12 semanas de idade. Esses animais foram divididos em 5 grupos experimentais, os quais receberão de acordo com a metodologia definida para cada grupo os seguintes tratamentos: salina (NaCl 0,9%, 5 ml/kg, i.p.), CPT-11 (70 mg/kg, i.p.), frutooligosacarídeos (FOS) (250 mg/kg, p.o.), *Saccharomyces boulardii* (1 x 10⁹ UFC/kg, p.o.) e FOS e *S. boulardii*. Posteriormente foram feitas as seguintes análises: diarreia, histológica, morfométrica, atividade mieloperoxidase e estatística de acordo com suas respectivas metodologias. Portanto, espera-se que os resultados que foram obtidos venham ratificar as informações disponíveis na literatura, trazendo resultados positivos quanto a prevenção da mucosite intestinal e da diarreia tardia através da administração de prebióticos, probióticos e simbióticos.

Palavras-chave: irinotecano; mucosite; prebióticos; probióticos; simbióticos.

INTRODUÇÃO

A mucosite intestinal (MI) é um efeito colateral comum no tratamento do câncer. Ela limita a dose dos agentes quimioterápicos utilizados e representa um alto custo ao Sistema Único de Saúde (SUS). A mucosite causada por antineoplásicos é considerada como um processo complexo, no qual ocorre uma série de eventos biológicos interligados (SONIS et al., 2004; SCULLY et al., 2006). A diarreia tardia severa associada a MI afeta aproximadamente 25% dos pacientes com câncer de cólon tratados com irinotecano (CPT-11), sendo um fator limitante de dose, e que dificulta a adesão do paciente ao tratamento quimioterápico. O irinotecano é um inibidor de topoisomerase I e é considerado um fármaco anti-proliferativo eficaz contra diferentes tipos de tumores. Na clínica, porém, ele é usado principalmente para tratar câncer colorretal (KEEFE et al., 2007). Prebióticos são ingredientes contidos nos alimentos que não são digeridos, mas que afetam positivamente a saúde do hospedeiro ao estimular o crescimento e/ou a atividade de bactérias benéficas presentes na microbiota intestinal. Os probióticos, por sua vez, são micro-organismos vivos que, quando ingeridos em quantidade suficiente, exercem efeitos benéficos à saúde além daqueles inerentes ao aporte nutricional. Como exemplo, pode-se citar *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, e algumas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces boulardii* (GEIER; BUTLER; HOWARTH, 2006). A combinação de prebióticos e probióticos é chamada de simbióticos e possui efeitos benéficos sinérgicos, maiores dos que os observados para as administrações individuais de prebióticos e probióticos (GEIER; BUTLER; HOWARTH, 2006). Baseado nisto, este trabalho avaliou o efeito da administração de prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção da mucosite intestinal e diarreia tardia induzida pela administração de irinotecano (CPT-11) em camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos Balb/c (n = 30), machos, entre 8 e 12 semanas de idade (Parecer favorável da CEUA nº). Os animais receberam irinotecano (CPT-11, 70 mg/kg, i.p.) uma vez ao dia, durante 4 dias consecutivos (LIMA-JÚNIOR et al., 2012). Um dia após a última administração de irinotecano, os animais foram sacrificados e porções proximais do jejuno foram retiradas para as análises histológicas. Foram realizados 5 grupos experimentais: Grupo I – controle normal tratado com salina (NaCl 0,9%, 5 ml/kg, i.p.); Grupo II- animais tratados com CPT-11 (75 mg/Kg, i.p); Grupo III - animais tratados com FOS: 250 mg/kg, p.o.); Grupo IV - animais tratados com FLORATIL: (1 x 10⁹ UFC/kg, p.o); Grupo V - animais tratados com SIMBIOTICO: (frutooligossacarídeos, 250 mg/kg, p.o.) e *S. boulardii* (1 x 10⁹ UFC/kg, p.o). Os animais de todos os grupos foram pesados diariamente 30 min. antes de receberem os tratamentos preestabelecidos para cada grupo experimental. No dia do sacrifício, os animais foram observados durante 2 períodos de 5 minutos para avaliação da diarreia. Foram atribuídos os seguintes escores: 0 = fezes com aspecto normal; 1 = fezes levemente alteradas, pouco umedecidas; 2 = fezes úmidas com pouca sujeira perianal; 3 = fezes úmicas com bastante sujeira perianal (KURITA et al., 2000). Após análise da diarreia, os animais foram levemente anestesiados com halotano para coleta de 1 mL de sangue pelo plexo orbital utilizando tubos capilares com EDTA como anticoagulante para análise hematológica. Ainda sob efeito da anestesia, os animais foram sacrificados e amostras do intestino delgado (jejuno) foram retiradas e fixadas em formol tamponada 10%, processadas e coradas com HE e PAS para exame em microscopia óptica. A análise levou em conta o aspecto dos vilos e criptas e a presença/intensidade do infiltrado inflamatório.

RESULTADOS

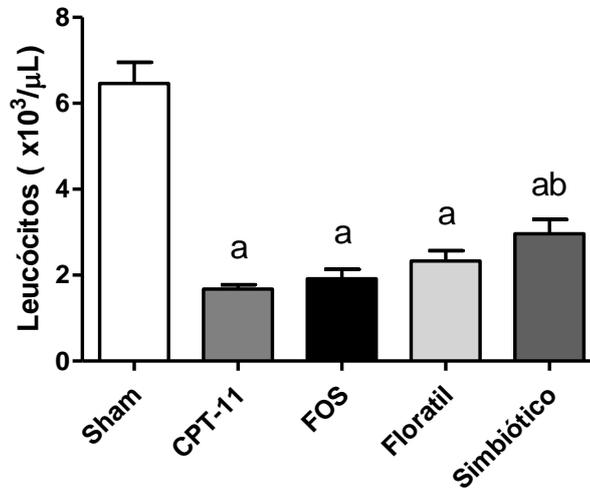
Os animais do grupo Sham não apresentaram variação significativa no peso corporal no decorrer dos 10 dias experimentais. Todavia, os animais dos grupos CPT-11, FOS e FLORATIL, exibiram perda de peso apenas a partir do 9º dia experimental, enquanto nos animais do grupo SIMBIÓTICO a perda de peso foi significativa desde o 8º dia. A diarreia apresentou-se expressivamente apenas nos animais do grupo CPT-11, como mostra a Tabela 1, o qual é estatisticamente diferente dos demais grupos (P<0,001). Os grupos FOS, FLORATIL e SIMBIÓTICO não exibiram diarreia, mostrando-se estatisticamente iguais ao grupo Sham.

Tabela 1 – Análise dos escores de diarreia no 10º dia experimental 1h após a administração dos tratamentos. Os valores estão expressos como mediana (mínimo-máximo) e analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dun. ^aComparação com todos os grupos (p<0,001).

Grupo	Mediana (min-máx)
Sham	0 (0-0) ^b
CPT-11 (75 mg/kg)	2 (0-3) ^a
CPT-11 (75 mg/kg) + FOS (250 mg/kg)	0 (0-0) ^b
CPT-11 (75 mg/kg) + Probiotic (1 x 10 ⁹ UFC/kg)	0 (0-0) ^b
CPT-11 (75 mg/kg) + FOS (250 mg/kg) + Probiotic (1 x 10 ⁹ UFC/kg)	0 (0-0) ^b

A análise hematológica mostrou uma significativa leucopenia nos 4 grupos que receberam CPT-11, quando comparado com o grupo Sham. O tratamento com simbiótico foi capaz de reverter parcialmente a leucopenia.

Figura 2 - Contagem total de leucócitos. Os resultados estão expressos média \pm E.P.M. e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni. ^aComparação com o grupo Sham ($p < 0,001$), ^bComparação com o grupo CPT-11 ($p < 0,05$).



Além da leucopenia observada na contagem total de leucócitos, nos achados da contagem diferencial observa-se uma significativa neutropenia nos grupos CPT-11, FOS e Floratil, quando comparados com o grupo Sham. Porém, o grupo Simbiótico apresentou um significativo aumento do quantitativo de neutrófilos quando comparado com os grupos. De acordo com os achados da análise histológica, não houve diferença significativa entre os grupos estudados. Pode-se observar que não houve encurtamento de vilos nem de criptas em nenhum dos grupos experimentais, apresentando-se estatisticamente iguais.

DISCUSSÃO

O tratamento com prebióticos, probióticos e simbióticos se mostraram eficientes na diminuição da diarreia tardia, mais os dados revelam uma significativa perda de peso dos grupos tratados quando comparados ao grupo Sham, que é um dos efeitos colaterais de tratamentos a base de quimioterápicos antineoplásicos. A análise hematológica mostrou uma melhora na leucopenia no grupo tratado com simbiótico quando comparado aos demais grupos tratados, mantendo com valores aproximados ao do grupo Sham. Em resposta aos processos inflamatórios causados pela mucosite intestinal observa-se uma elevação no número de linfócitos em todos os grupos tratados.

Os animais tratados somente com irinotecano (CPT-11) foram os únicos que apresentaram diarreia expressiva. Os grupos tratados com prebióticos, probióticos e simbióticos não apresentaram diarreia significativa. Alguns estudos clínicos e experimentais têm mostrado que os probióticos (*Saccharomyces boulardii*) são benéficos no tratamento da diarreia e colite ulcerativa, por exemplo (SOUZA et al, 2007). O que contribuiu para a melhora da diarreia no grupo tratado.

CONCLUSÕES

Embasados nos resultados obtidos, podemos concluir que o uso de *Saccharomyces boulardii* e FOS no tratamento da mucosite intestinal é eficaz na redução da diarreia tardia induzida pelo CPT-11. Todavia, são necessários mais estudos para uma melhor elucidação dos mecanismos relacionados à mucosite intestinal induzida por CPT-11, bem como a diminuição dos demais efeitos colaterais causados pelo efeito tóxico deste quimioterápico.

AGRADECIMENTOS

A Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Pernambuco e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

Geier, M. S.; Butler, R. N.; Howarth, G. S. 2006. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: A Role in Chemoprevention for Colorectal Cancer? *Cancer Biology & Therapy*, vol. 5, n. 10, p. 1265–1269.

Keefe, D. M.; Schubert, M. M.; Elting, L. S.; Sonis, S. T.; Epstein, J. B.; Raber-Durlacher, J. E.; Migliorati, C. A.; Mcguire, D. B.; Hutchins, R. D.; Peterson, D. E. 2007. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. *Cancer*, vol. 109, n. 5, p. 820–831.

Lima-Júnior, R. C. P.; Figueiredo, A. A.; Freitas, H. C.; Melo, M. L. P.; Wong, D. V. T.; Leite, C. A. V. G.; Medeiros, R. P.; Marques-Neto, R. D.; Vale, M. L.; Brito, G. A. C.; Oriá, R. B.; Souza, M. H. L. P.; Cunha, F. Q.; Ribeiro, R. A. 2012. Involvement of nitric oxide on the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis: role of cytokines on inducible nitric oxide synthase activation. *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*, vol. 69, n. 4, p. 931–942.

Scully C, Sonis S, Diz Pd. Oral Mucositis. *Oral Dis.*, 12(3): 229-241, 2006.

Sonis, S. T.; Elting, L. S.; Keefe, D.; Peterson, D. E.; Schubert, M.; Hauer-Jensen, M.; Bekele, B. N.; R Aber-Durlacher, J.; Donnelly, J. P.; Rubenstein, E. B. P. 2004. erspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*, v. 100, suppl. 9, p. 1995-2025.

Souza, M. M.; Aguilar-Nascimento, J. E.; Silva, M. H. G.; Rubens, C. J. 2007. Effects of budesonide and probiotics enemas on the colonic mucosa of rats with experimental colitis. *Acta Cir. Bras.*, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 34-38.