



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

KATIA DUARTE VITAL

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS: avaliação da atividade da atorvastatina
sobre a homeostase intestinal**

Belo Horizonte

2023

Katia Duarte Vital

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS: avaliação da atividade da atorvastatina
sobre a homeostase intestinal**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Simone Odília Antunes Fernandes

Coorientadores: Prof. Valbert Nascimento Cardoso e

Prof. Flaviano dos Santos Martins

Belo Horizonte

2023

Vital, Kátia Duarte.

V836r Reposicionamento de fármacos [recurso eletrônico]: avaliação da atividade da atorvastatina sobre a homeostase intestinal / Kátia Duarte Vital. – 2023.

1 recurso eletrônico (181 f. : il.) : pdf

Orientadora: Simone Odília Antunes Fernandes.
Coorientadores: Valbert Nascimento Cardoso.
Flaviano dos Santos Martins.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Mucosite – Teses. 2. Mucosite intestinal – Teses. 3. Doenças inflamatórias intestinais – Teses. 4. Quimioterapia – Teses. 5. Homeostase – Teses. 6. Atorvastatina – Teses. 7. Fluoruracila – Teses. I. Fernandes, Simone Odília Antunes. II. Cardoso, Valbert Nascimento. III. Martins, Flaviano dos Santos. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título.

CDD: 616.34



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ATORVASTATINA SOBRE A HOMEOSTASE INTESTINAL"

KÁTIA DUARTE VITAL

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Comissão

Profa. Dra. Deysi Viviana Tenazoa Wong
Universidade Federal do Ceará- UFC

Profa. Dra. Leonardo Lima Fuscaldi
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Profa. Dra. Luciene das Gracas Mota
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Dr. José Eduardo Gonçalves
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Profa. Dra. Simone Odília Antunes Fernandes - Orientadora
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Dr. Valbert Nascimento Cardoso - Coorientador
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Dr. Flaviano dos Santos Martins - Coorientador
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 05 de dezembro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por Luciene das Gracas Mota, Professora do Magistério Superior, em 05/12/2023, às 13:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Flaviano dos Santos Martins, Professor do Magistério Superior, em 05/12/2023, às 13:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Valbert Nascimento Cardoso, Professor do Magistério Superior, em 05/12/2023, às 13:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Jose Eduardo Goncalves, Coordenador(a), em 05/12/2023, às 13:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Simone Odília Antunes Fernandes, Professora do Magistério Superior, em 05/12/2023, às 13:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Deysi Viviana Tenazoa Wong, Usuário Externo, em 06/12/2023, às 10:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Leonardo Lima Fuscaldi, Usuário Externo, em 06/12/2023, às 10:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2870180 e o código CRC C5AE798F.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que me ajudaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu Deus por toda força e perseverança que ele tem me dado dia a dia e que tem me ajudado a enfrentar todos os desafios. A Ele dou toda a glória e louvor pelo dom da vida. A Nossa senhora, minha mãe protetora que sempre intercedeu por mim.

A minha família, minha mãe e meu pai pelo suporte e amor incondicional. A Evandro que tanto me ajudou. Aos meus amigos (minhas irmãs da vida, Erika, Ju, Mari, Veronica e Dayana) pelo incentivo e apoio. Agradeço também a todas as minhas conexões poderosas, que me ensinaram algo e me tornaram alguém um pouco melhor dia após dia.

Aos professores Simone e Valbert pela orientação e acolhimento, além de todos os ensinamentos compartilhados e exemplos de vida. Os ensinamentos muitas vezes foram além do meio acadêmico e me impulsionaram também como ser humano. Ao professor Flaviano pelo auxílio prestado para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos grandes amigos dessa jornada, em especial ao pessoal do laboratório de radioisótopos, pelos bons momentos compartilhados dentro e principalmente fora da UFMG, Aline, Amanda Dias, Barbara Gatti, Iasmin, Luiz Octávio, Dani e William. Aos colaboradores que me ajudaram em algum momento neste doutorado, em especial a Beatriz, Bruno, Isabela Yamada, Isabela Fonseca, Tiago, Rafaela e Patrícia. Também agradeço aos colegas dos demais laboratórios da FAFAR pela parceria.

Agradeço aos parceiros que contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho – Prof. Flaviano e Mônica, Ramon e Bruno. Ao Prof. Ênio Ferreira do Laboratório de patologia comparada. À Profa. Jacqueline Alvarez-Leite do LABIN e Janayne Luihan. Ao Professor Vasco Azevedo e os seus colaboradores Rodrigo Dias, Nina Dias, Luiz Claudio e Laísa Macedo. À Prof. Ieda e Sophia do Laboratório de bioquímica. À professora Lilian Lacerda Bueno e o Jorge Lucas Nascimento.

Agradeço também os demais colegas contribuíram significativamente para que este trabalho pudesse ser realizado e a banca pela disponibilidade em contribuir no trabalho.

Aos funcionários do Biotério da Faculdade de Farmácia, Adelaide Fernandes e Batista Vitorino pela ajuda e apoio técnico.

A toda equipe do departamento de pós-graduação em ciências farmacêuticas, pelo auxílio prestado.

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

A mucosite é um efeito adverso dos regimes de tratamento contra o câncer. Os pacientes geralmente apresentam lesões ulcerativas difusas, inflamação e hemorragias ao longo do trato gastrointestinal que promovem complicações infecciosas secundárias, gerando um importante impacto socioeconômico com o aumento da morbidade e mortalidade. O tratamento para mucosite é limitado, visa a prevenção de complicações, incluindo controle da dor, suporte nutricional e prevenção de infecções secundárias com medidas profiláticas. O reposicionamento farmacológico concentra-se na reutilização de compostos conhecidos para outros fins e tem sido uma alternativa para impulsionar a descoberta de fármacos e reduzir entraves associados ao processo de desenvolvimento de novos compostos. As estatinas que são agentes hipolipemiantes, possuem efeitos "pleiotrópicos" que incluem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomoduladoras, podendo ser uma alternativa no auxílio do tratamento da mucosite. Nesse estudo, objetivamos realizar uma avaliação do potencial terapêutico da atorvastatina em um modelo murino de mucosite gastrointestinal induzida por 5-fluorouracil (5-FU). Em um primeiro momento uma revisão de literatura sistemática foi realizada para buscar na literatura os estudos aplicando as estatinas nas doenças inflamatórias intestinais. Em um segundo e terceiro momento um modelo pré-clínico de mucosite gastrointestinal utilizando camundongos BALB/c foi realizado. Os animais foram divididos em seis grupos experimentais e tratados com a atorvastatina (5, 10 e 30 mg/kg) administrada via gavagem oral. Para indução da mucosite os animais receberam injeções intraperitoneais de 5-FU (30 mg/kg/dia) durante 5 dias. Os resultados obtidos da revisão sistemática demonstraram que 21 estudos relevantes em modelos pré-clínicos utilizando vários protocolos de indução de colite e várias estatinas demonstraram numerosos efeitos benéficos destas drogas na redução da atividade da doença, perfil inflamatório, estresse oxidativo e parâmetros clínicos gerais de animais. No modelo pré-clínico de mucosite desenvolvido neste estudo o tratamento com a atorvastatina melhorou a função da barreira epitelial promovendo a redução da permeabilidade intestinal, associada também a melhora na arquitetura da mucosa do intestino delgado, redução do infiltrado inflamatório e do estresse oxidativo. A atorvastatina também promoveu uma regulação negativa de marcadores inflamatórios, como Tlr4, MyD88, NF- κ B, Tnf- α , Il1 β e Il6 de maneira dependente de dose e regulou positivamente os níveis de mRNA de mucina 2 (MUC2), ZO-1, ocludina e proteínas de junções estreitas. Os resultados também demonstraram que a atorvastatina nas doses de 5 e 10 mg/kg apresentou um papel protetor para o fígado, reduzindo os níveis de AST, ALT, estresse oxidativo e aumentando a captação do fitato de sódio (99m Tc) pela região hepática. Em conclusão, os resultados sugerem que a atorvastatina pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos adversos tóxicos do 5-FU, envolvendo a inibição das vias de sinalização TLR4/MYD88/NF- κ B, iNos e caspase 3 e sendo capaz de prevenir os danos adversos à mucosa intestinal e fígado, revelando ser uma estratégia terapêutica no auxílio do tratamento da mucosite intestinal.

Palavras chave: mucosite gastrointestinal; quimioterapia; homeostase gastrointestinal; via do mevalonato; atorvastatina; 5-fluorouracil; reposicionamento farmacológico.

ABSTRACT

Mucositis is an adverse effect of cancer treatment regimens. Patients generally present diffuse ulcerative lesions, inflammation and hemorrhages throughout the gastrointestinal tract that promote secondary infectious complications, generating an important socioeconomic impact with increased morbidity and mortality. Treatment for mucositis is limited and aims to prevent complications, including pain control, nutritional support and prevention of secondary infections with prophylactic measures. Pharmacological repositioning focuses on the reuse of known compounds for other purposes and has been an alternative to boost drug discovery and reduce obstacles associated with the process of developing new compounds. Statins, which are lipid-lowering agents, have "pleiotropic" effects that include anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatory properties, and may be an alternative to aid in the treatment of mucositis. In this study, we aimed to evaluate the therapeutic potential of atorvastatin in a murine model of gastrointestinal mucositis induced by 5-fluorouracil (5-FU). Initially, a systematic literature review was carried out to search the literature for studies applying statins to inflammatory bowel diseases. Secondly, a preclinical model of gastrointestinal mucositis using BALB/c mice was carried out. The animals were divided into six experimental groups and treated with atorvastatin (5, 10 and 30 mg/kg) administered via oral gavage. To induce mucositis, the animals received intraperitoneal injections of 5-FU (30 mg/kg/day) for 5 days. The results obtained from the systematic review demonstrated that 21 relevant studies in preclinical models using various colitis induction protocols and various statins demonstrated numerous beneficial effects of these drugs in reducing disease activity, inflammatory profile, oxidative stress and general clinical parameters in animals. . In the preclinical model of mucositis developed in this study, treatment with atorvastatin improved the function of the epithelial barrier, promoting a reduction in intestinal permeability, also associated with an improvement in the architecture of the small intestine mucosa, reduction of inflammatory infiltrate and oxidative stress. Atorvastatin also downregulated inflammatory markers such as Tlr4, MyD88, NF- κ B, Tnf- α , Il1 β and Il6 in a dose-dependent manner and upregulated the mRNA levels of mucin 2 (MUC2), ZO-1, occludin and tight junction proteins. The results also demonstrated that atorvastatin at doses of 5 and 10 mg/kg had a protective role for the liver, reducing the levels of AST, ALT, oxidative stress and increasing the uptake of ^{99m}Tc-phytate in the hepatic region. In conclusion, the results suggest that atorvastatin may be an alternative to minimize the toxic adverse effects of 5-FU, involving the inhibition of the TLR4/MYD88/NPRL3/NF- κ B, iNos and caspase 3 signaling pathways and being able to prevent adverse damage to the intestinal mucosa and liver, proving to be a therapeutic strategy to help treat intestinal mucositis.

Keywords: gastrointestinal mucositis; chemotherapy; gastrointestinal homeostasis; mevalonate pathway; atorvastatin; 5-fluorouracil; pharmacological repositioning.

ILUSTRAÇÕES

Revisão de literatura

Figura 1 - Estrutura química da molécula de uracila e 5-FU.	24
Figura 2 - Mecanismo de citotoxicidade e metabolismo do 5-FU.	26
Figura 3: Efeitos da inibição da enzima HMG-CoA redutase pelas estatinas.....	36

Capítulo I: Therapeutic effects and the impact of statins in the prevention of ulcerative colitis in preclinical models: a systematic review

Figure 1: Flow diagram of the search results of our systematic literature review. Based on “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement.” <http://www.prisma-statement.org> From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). 59

Figure 2: Evaluation of the animal studies using the SYRCLE’s risk of bias tool for animal studies. Summary shows studies' quality assessment at an individual level. (+) Low risk of bias. (–) High risk of bias. (?) Unclear risk of bias..... 69

Capítulo II: Atorvastatin improves intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in mice by modulating the and epithelial barrier and inflammatory signaling pathways

Figura 1 - A atorvastatina 30 mg/kg protege contra o encurtamento do intestino delgado (a) Perda de peso corporal, (b) Comprimento do intestino delgado, (c) Alimentar, (d) Ingestão de líquidos, (e) Avaliação dos escores de diarreia. Letras diferentes (a, b), indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls e o escore de diarreia foi analisado pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. Os escores de diarreia foram definidos como: 0-normal; 1 – leve; 2 – moderado; 3 – grave.103

Figura 2 - Efeito protetor da atorvastatina na infiltração de células inflamatórias. (a) Mieloperoxidase, (b) Peroxidase de eosinófilos, (c) sIga. Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls. 104

Figura 3 - A atorvastatina protege a mucosa intestinal contra danos epiteliais induzidos por 5-FU. (a) Imagens histopatológicas de íleo de camundongo (objetiva: $\times 20$, escala 100 μm - CT (A); ATV (B); Muc (C); MUC + ATV 5 mg/kg (D); MUC + ATV 10 mg/kg (E); MUC + ATV 30 mg/kg (F). (b) altura das vilosidades (c) profundidade das criptas (d) relação entre altura das vilosidades e profundidade das criptas (e) Pontuação histopatológica. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste post hoc de Dunn (e) ou ANOVA seguido pelo pós-teste de Newman-Keuls (a-c)..... 105

Figura 4 - A atorvastatina diminui a permeabilidade intestinal e regula positivamente a expressão gênica das proteínas das junções estreitas. (a) Permeabilidade intestinal, (b-c)

Expressão gênica relativa de proteínas de junção estreita. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls	107
Figura 5 - Estresse oxidativo no íleo. (a) Concentração de hidroperóxidos, (b) Concentração de TBARS, (c) Concentração de SOD, (d) Concentração de glutathiona peroxidase. ns não indica diferença estatística ($p > 0,05$). pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls	108
Figura 6 - A atorvastatina regula negativamente a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias induzida por 5-FU. (a) Il6 (b) Il1b, (c) Tnf e (d) Il-10 e (e) Tgf- β . Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida dos pós-teses de Newman-Keuls.....	110
Figura 7 - A atorvastatina regula negativamente a expressão gênica de marcadores envolvidos com a ativação da via de sinalização NF- κ B induzida por 5-FU. (a) Trl4 (b) Myd88, (c) Nplr3, (d) iNos, (e) Nfkb1 e (f) Caspases 3. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) por ANOVA seguido pelos post-teste de Newman-Keuls.....	112
Figura 8 - A atorvastatina melhorou o número de células de caliciformes. (a) Número de células caliciformes, (b) Expressão gênica relativa da mucina 2 (Muc2) e (c) fotomicrografias representativas da seção do íleo coradas com Ácido Periódico-Schiff (PAS), as setas mostram as células caliciformes (objetiva: $\times 40$, escala 100 μ m). Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.	113

Capítulo III: avaliação do efeito protetor da atorvastatina sobre a toxicidade sistêmica e hepática em um modelo experimental de mucosite gastrointestinal induzida por 5-fluorouracil em camundongos

Figura. 1 - Imagens histopatológicas do fígado de camundongos: (objetiva: $\times 20$, escala 100 μ m - CT (a); ATV (b); MUC (c); MUC + ATV 5 mg/kg (d); MUC + ATV 10 mg/kg (e) MUC + ATV 30 mg/kg (f) HE (n=6).	160
Figura. 2 - Imagens histopatológicas de rins de camundongos: (objetiva $\times 20$, escala 100 μ m - CT (a); ATV (b); MUC (c); MUC + ATV 5 mg/kg (d); MUC + ATV 10 mg/kg (e) MUC + ATV 30 mg/kg (f) HE (n=6).	162
Figura. 3 - Efeito da ATV nos biomarcadores hepáticos e renais (a) AST, (b) ALT, (c) GGT, (d) Creatinina, (e) Uréia (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) por ANOVA seguido pelo pós-teste de Newman-Keuls.	164

Figura. 4 - Efeitos da ATV no balanço oxidativo nos níveis de (a) MDA, (b) Hidroperóxido, (c) SOD, (d) GPX (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica ausência de diferença estatística ($p > 0,05$). pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.....	165
Figura. 5 - Atividade injetada de fitato de sódio (^{99m}Tc) por grama de tecido (%ID/g) e índice massa/fígado (c)massa/baço (d). (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$). por ANOVA seguido do pós-teste de Newman-Keuls.	166
Figura. 6 - Captação do fitato de sódio (^{99m}Tc) na região hepatoesplênica CT (a); ATV (b); MUC (c); MUC + ATV 5 mg/kg (d); MUC + ATV 10 mg/kg (e); MUC + ATV 30 mg/kg (f).	167
Figura. 7 - Análise hematológica na mucosite induzida por 5-FU em camundongos. (a) RBC, (b) HGB, (c) HCT, (d) MCV, (e) MCH, (f) MCHC, (g) RDW-CV, (H) plaquetas (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica ausência de diferença estatística ($p > 0,05$). pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.....	169
Figura. 8 - Análise de leucócitos na mucosite induzida por 5-FU em camundongos. (a) leucócitos, (b) linfócitos. (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$). por ANOVA seguido do pós-teste de Newman-Keuls.....	169

TABELAS

Capítulo I: Therapeutic effects and the impact of statins in the prevention of ulcerative colitis in preclinical models: a systematic review

Table 1: Description of the main characteristics of the experimental model and intervention of the studies regarding the use of statins in studies of colitis animal models. 60

Capítulo II: Atorvastatin improves intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in mice by modulating the and epithelial barrier and inflammatory signaling pathways

Tabela 1: Primers (qPCR) usados neste estudo. 100

ABREVIACÕES

5-FU	5-Fluourouracil
AJs	Junções de aderência
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
CEC	Célula de enterocromafina
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CK	Creatina quinase
CNS	Sistema nervoso central
CoQ10	Coenzima Q10
COX	Ciclo-oxigenase
CPM	Contagem por minuto
DAMPs	Do inglês <i>damage-associated molecular patterns</i>
DHFR	Dihydrofolato redutase
DHFU	Di-hidrofluorouracil
DMSO	Dimetil sulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleic
DPD	Di-hidropirimidina desidrogenase
DSS	do inglês, <i>Dextran Sulfate Sodium</i>
dTMP	Deoxitimidina monofosfato
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentaacético
dTTP	Deoxitimidina trifosfato
dUTP	Trifosfato de desoxiuridina
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
ENS	Sistema nervoso entérico
EPO	Peroxidase de Eosinófilo
FBAL	Fluoro- β -alanina
FDA	do inglês, <i>Food and Drug Administration</i>
FdUMP	Fluorodeoxiuridina monofosfato
FdUTP	Fluorodeoxiuridina trifosfato
FPP	Pirofosfato de farnesil
FUDR	Fluorodeoxiuridina
FUPA	Fluoro- β -ureidopropionato
FUTP	5-fluorouridina trifosfato
g	Grama
GGPP	Geranilgeranilpirofosfato
GGT	Gama glutamil transferase
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A
HTAB	Brometo de hexadeciltrimetilamônio
i.p	Intraperitoneal
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IEC	Célula epitelial intestinal
IELs	Linfócitos intra-epiteliais
IgA	Imunoglobulina A
IL	Interleucina
ILCs	Células Linfóides Inatas
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzida

ISC	Tronco intestinal celular
JAM	moléculas de adesão juncional
JNK	Jun N-terminal quinase
kDa	Kilodaltons
Kg	Kilograma
KGF	Fator de crescimento de queratinócitos
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LLLT	Terapia a laser de baixo nível
LPS	Lipossacarídeo bacteriano
M	Molar
MAPK	Proteína quinase ativada por mitogênio
MBq	Megabecquerel
mg	Miligrama
ml	Mililitro
MPO	Mieloperoxidase
MTX	Metotrexato
MUC	Mucina
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NF-κB	Fator de transcrição NF-kapaB
NK	do inglês, <i>Natural Killer</i>
NLM	Nódulos linfáticos mesentéricos
NOD	Domínio de oligomerização de nucleotídeos NOD-like receptors
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxalazona
PAF	Fator de ativação de plaquetas
PAMP	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PAS	Ácido Periódico Combinado de Schiff
PBM	PhotoBioModulation
PBS	Tampão fosfato-salino
PCR	Proteína C-reativa
pH	Potencial hidrogeniônico
PMSF	Fluoreto de fenilmetano sulfonil
PPAR	Receptor ativado por proliferador de peroxissomo
PRR	Pattern recognition receptors
RNA	Ácido Ribonucléico
ROS	Espécie Reativa de Oxigênio
RPM	Rotação por minuto
sIgA	Imunoglobulina A secretória
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCTH	Transplante de células-tronco hemopoiéticas
TGF-β	Fator de Transformação do Crescimento Beta
TGI	Trato Gastrointestinal
Th	do inglês, <i>T help</i>
TJs	Junções estreitas
TK	Timidine kinase
TLR	do inglês, <i>Toll like Receptor</i>
TNBS	Ácido trinitrobenzeno sulfônico
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TS	Timidilato sintase
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

UPB1	β -ureidopropionase
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
ZO-1	do inglês, <i>Zonula occludens 1</i>

ABREVIACOES CAPÍTULO I

8-OHdG	8-hydroxy-2-deoxyguanosine
AOM	Azoxymethane
AZM	Azoxymethane
CD	Crohn's disease
DAI	Disease Activity Index
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
DSS	Dextran Sulfate Sodium
FPP	Farnesyl pyrophosphate
GGPP	Geranylgeranyl pyrophosphate
GPX	Glutathione peroxidase
GTP	Guanosine triphosphate
IBD	Inflammatory bowel disease
iNOS	Nitric oxide synthase
IRAK	Receptor-associated kinase family
JAK	Janus kinase
MAPKs	Mitogen-activated protein kinases
MDA	Malondialdehyde
MMPs	Matrix metalloproteinases
MPO	Myeloperoxidase
MyD88	Myeloid differentiation factor 88
NADPH	Oxidase nicotinamide adenine dinucleotide
NF- κ B	Nuclear factor-kappa B
NLR	Like receptor
NOD	Nucleotide-binding-oligomerization-domain
NOX	Phosphate oxidase
PAMPs	Patterns associated with pathogens
PARP	Enzyme poly (ADP-ribose) polymerase
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptors
PRISMA	Systematic Reviews and Meta-Analyses
PRR	Pathogen recognition receptor
ROCK	Rho-kinase
SOD	Superoxide dismutase
STAT	Signal transducers and activators of transcription
SYRCLE	Systematic Review Centre for Laboratory animal Experimentation
TBA	Thiobarbituric acid
TGF	Transforming growth factor
UC	Ulcerative colitis

SUMÁRIO

ILUSTRAÇÕES	10
TABELAS	14
ABREVIACÕES.....	15
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 5-Fluorouracil (5-FU)	23
2.1. <i>Farmacocinética e Farmacodinâmica</i>	24
2.2 <i>A patobiologia da mucosite</i>	27
2.2.1 <i>Aspectos clínicos e epidemiológicos da mucosite</i>	29
2.3 <i>Estatinas</i>	31
2.3.1 <i>Efeitos pleotrópicos das estatinas</i>	34
2.3.2 <i>Atorvastatina</i>	38
REFERENCIAS	41
3 OBJETIVO	52
3.1 <i>Objetivo geral</i>	52
3.2 <i>Objetivos específicos</i>	52
CAPÍTULO I	53
THERAPEUTIC EFFECTS AND THE IMPACT OF STATINS IN THE PREVENTION OF ULCERATIVE COLITIS IN PRECLINICAL MODELS: A SYSTEMATIC REVIEW	53
1 INTRODUCTION	55
4 METHODS.....	56
2.1 <i>Inclusion Criteria</i>	56
2.2 <i>Exclusion Criteria</i>	56
2.3 <i>Selection of Studies</i>	57
2.4 <i>Assessment of Risk of Bias in the Included Studies</i>	57
5 RESULTS	57
3.1 <i>Study inclusion</i>	57
3.2 <i>Quality assessment</i>	58
3.3 <i>Experimental models</i>	68
3.4 <i>Statins</i>	70
3.5 <i>Body weight loss and DAI and maintenance of the intestinal barrier</i>	70

3.6 Inflammatory response	70
3.7 Anti-apoptotic and pro-proliferative activities	71
3.8 Oxidative stress	71
3.9 Mucus production and collagen.....	71
6 DISCUSSION.....	72
6.1 Molecular mechanisms of the anti-inflammatory effects of statins	72
6.2 Effect of statins on signal transducing and transcription activating proteins (STAT)	74
6.3 Statins reduce MPO and COX	74
6.4 Statins modulate proteins of tight junction, increase the production of Mucin, and reduce Fibrosis	75
6.5 Statins reduce oxidative stress.....	77
6.6 Statins improve histology and clinical parameters in UC.....	78
7 CONCLUSION	78
REFERENCES	80
CAPITULO II.....	90
1 INTRODUÇÃO	93
2 MATERIAIS E METODOS	95
2.1 Animais	95
2.2 Design Experimental	95
2.3 Avaliação da perda de peso e diarreia	95
2.4 Análise histopatológica e morfométrica	96
2.5 Permeabilidade intestinal	96
2.6 Atividade da mieloperoxidase.....	96
2.7 Atividade da peroxidase de eosinófilos	97
2.8 IgA secretora (sIgA)	97
2.9 Estresse oxidativo	98
2.10 Expressão gênica no íleo de camundongos	98
2.11 Análise estatísticas	100
3 RESULTADOS	101
3.1 A atorvastatina reduz a diarreia, mas não previne a perda de peso	101
3.2 A atorvastatina reduz a atividade da enzima mieloperoxidase e peroxidase eosinofílica	103
3.3 ATV atenua os danos histopatológicos induzidos pela quimioterapia	104

<i>3.4 A atorvastatina previne a permeabilidade intestinal induzida por 5-FU, aumenta e regula positivamente a expressão do gene das proteínas de junção estreita, mas não reduz o estresse oxidativo no intestino delgado</i>	106
<i>3.5 ATV diminui a expressão gênica de medidores pro-inflamatórios induzidos pela quimioterapia</i>	108
<i>3.6 A atorvastatina modula a expressão gênica de TLR4/MYD88/iNos/NPRL3/NF-κB e a via de sinalização de caspases</i>	111
<i>3.7 Atorvastatina reduz a lesão de células caliciformes induzida por 5-FU</i>	112
4 DISCUSSÃO	113
5 CONCLUSÃO	121
CONTRIBUIÇÕES	122
REFERENCIAS	123
CAPITULO III	151
AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DA ATORVASTATINA SOBRE A TOXICIDADE SISTÊMICA E HEPÁTICA EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE MUCOSITE GASTROINTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL EM CAMUNDONGOS	151
1 INTRODUÇÃO	154
2 MATERIAIS E METODOS	155
<i>2.1 Animais e ética</i>	155
<i>2.2 Design Experimental</i>	156
<i>2.3 Análises Histopatológicas</i>	156
<i>2.4 Contagem de células sanguíneas e testes bioquímicos</i>	156
<i>2.5 Stress Oxidativo</i>	157
<i>2.6 Cintilografia hepática com fitato de sódio (99m Tc)</i>	158
<i>2.7 Análises estatísticas</i>	158
3 RESULTADOS	159
<i>3.1 Histologia</i>	159
<i>3.2 Biomarcadores hepáticos e renais</i>	162
<i>3.3 Estresse oxidativo</i>	164
<i>3.4 Cintilografia hepática com fitato de sódio (99m Tc)</i>	165
<i>3.5 Análise dos Parâmetros Hematológicos</i>	167
4 DISCUSSÃO	170
5 CONCLUSÃO	174

CONTRIBUIÇÕES	175
REFERENCIAS	176
ANEXOS	180

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A quimioterapia e radioterapia são intervenções altamente eficazes para o tratamento do câncer. Embora esses tratamentos sejam empregados para melhorar a qualidade de vida do paciente, eles estão associados a vários efeitos adversos que resultam em maior morbimortalidade dos pacientes. Dentre os inúmeros efeitos adversos, a mucosite se destaca como a condição mais debilitante da quimiorradioterapia (Brianna & Lee, 2023; Kuderer et al., 2022).

A mucosite é caracterizada por lesões ulcerativas difusas, inflamação e hemorragias que se desenvolvem ao longo de todo o trato gastrointestinal, especialmente no intestino delgado (Akbarali et al., 2022). Os indivíduos com mucosite apresentam sintomas gastrointestinais como disfagia, dispepsia, vômito, diarreia e dor que levam à dificuldade de deglutição, gerando desidratação, perda de peso e necessidade de suporte nutricional (Elad et al., 2022). A mucosite pode comprometer as terapias anticâncer, uma vez que gera um comprometimento no planejamento quimioterápico, interrupções ou descontinuações do tratamento (J. Huang et al., 2022). As complicações infecciosas são preocupantes, visto que a perda da barreira intestinal expõe os pacientes imunossuprimidos ao risco de infecções secundárias e sepse, que estão associadas ao aumento da mortalidade. Além disso, esta condição gera um importante impacto socioeconômico, associado ao aumento do uso de recursos de saúde, em decorrência ao maior tempo de hospitalização, sendo que um importante custo incremental é adicionado aos demais recursos necessários para o atendimento de pacientes com câncer (Jehn et al., 2019).

O tratamento para mucosite é limitado, visa a prevenção de complicações, incluindo controle da dor, suporte nutricional e controle de infecções secundárias, bem como o uso de agentes farmacológicos para reduzir a diarreia e a perda de eletrólitos (Shankar et al., 2017a). Esses tratamentos apesar de apresentarem grande importância para o controle da mucosite, compreendem ampla variação no contexto clínico do paciente e os protocolos do tratamento oncológico (Sonis, 2021a).

Nos últimos anos, inúmeros esforços foram promovidos na pesquisa e desenvolvimento de novos agentes para o tratamento da mucosite (Villa & Sonis, 2020a). Atualmente, as intervenções contra a mucosite incluem tratamentos como probióticos, antibióticos

antioxidantes, drogas anti-inflamatórias, inibidores de apoptose e hormônios de crescimento (Dahlgren et al., 2021).

As pesquisas e o desenvolvimento de novos medicamentos são processos longos, demorados e caros. Frequentemente, leva-se 10-15 anos de pesquisa e 0,8-1,5 bilhões de dólares para transformar um composto em produto pronto para o mercado. A cada ano, aproximadamente 90% dos medicamentos falham durante as avaliações do *Food and Drug Administration* (FDA), impedindo seu uso na terapia real (Lotfi Shahreza et al., 2018). Uma alternativa para acelerar o processo de aprovação de medicamentos, minimizando os custos e riscos associados aos programas de desenvolvimento, é a realização do reposicionamento farmacológico, que se tornou nos últimos anos uma tendência, por meio da identificação de um novo uso clínico para um medicamento existente (Hua et al., 2022). Essa abordagem vem sendo muito promissora para acelerar o processo de descoberta de medicamentos (Jourdan et al., 2020).

Outro dado animador são as taxas de sucesso dos medicamentos reposicionados, maiores quando comparados aos novos, atingindo 30% nos últimos anos. Além disso, junto com os aspectos positivos do reposicionamento, pode-se incluir diferentes faixas etárias, posologia ou vias de administração (Serafin & Hörner, 2018). Cabe destacar ainda, que o reposicionamento de medicamentos também é uma estratégia de baixo risco. Como os medicamentos reposicionados foram aprovados em todos os testes clínicos da Fase I, Fase II e Fase III, sua segurança está confirmada. Além disso, alguns medicamentos reposicionados podem ser comercializados como entidades moleculares e têm mais oportunidades de serem lançados no mercado assim que uma nova indicação for descoberta (Ashburn & Thor, 2004a; Lotfi Shahreza et al., 2018).

As estatinas são um grupo de compostos inibidores da 3-hidroxi-3-metil glutaril (HMG) -CoA redutase, enzima que participa da síntese do colesterol, estão entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo, com mais de 143 milhões de dispensações anuais apenas nos Estados Unidos (Toth & Banach, 2019). As estatinas são benéficas na prevenção primária e secundária de doenças cardíacas coronárias devido à alta ação hipolipidêmica, apresentam alta tolerabilidade e segurança (Guan et al., 2019). Além da redução sobre o nível de colesterol, outros efeitos conhecidos como "pleiotrópicos", foram identificados nas estatinas, que incluem principalmente propriedades anti-inflamatórias, antiproliferativas, antioxidantes, imunomoduladoras, neuroprotetoras e

antitrombóticas (Murphy et al., 2020). Diversos estudos têm sido realizados nos últimos anos com base nesses efeitos pleiotrópicos, com o objetivo de redirecionar o uso das estatinas para outros fins, realizando, portanto o reposicionamento desta droga (Kobayashi et al., 2019).

Para a avaliação do efeito das estatinas em doenças inflamatórias intestinais, estudos revelaram que a pravastatina (Naito et al., 2006a) e rosuvastatina (Aktunc et al., 2011a) diminuíram a severidade da inflamação intestinal em modelos murinos de colite induzida por dextrano sulfato de sódio (DSS). Além disso, foi observada atividade imunomoduladora da atorvastatina no modelo murino de colite induzida por ácido sulfônico (TNBS) (Rashidian et al., 2016c; Vital et al., 2023). Alguns estudos utilizando as estatinas (sinvastatina) já foram realizados em modelos de mucosite gástrica e oral por indução com metrotexato e com 5-Fluourouracil (5-FU) e demonstrando bons resultados na prevenção da mucosite (A. da C. Medeiros, Azevedo, Lima, Araújo Filho, et al., 2018; C. A. C. X. Medeiros et al., 2011a). No entanto, não foram realizados estudos *in vitro* e *in vivo* com a atorvastatina, molécula do grupo das estatinas, avaliando o seu potencial anti-inflamatório em modelo de mucosite gastrointestinal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *5-Fluorouracil (5-FU)*

A maioria dos agentes antineoplásicos interagem com o DNA (ácido desoxirribonucleico) ou os seus precursores, promovendo a inibição da síntese do material genético ou causando danos irreparáveis ao DNA. Os agentes quimioterápicos podem ser classificados como agentes alquilantes, antimetabólitos, antibióticos citotóxicos, derivados de plantas, hormônios/antagonistas, inibidores da proteína quinase, anticorpos monoclonais e outros (Vodenkova et al., 2020).

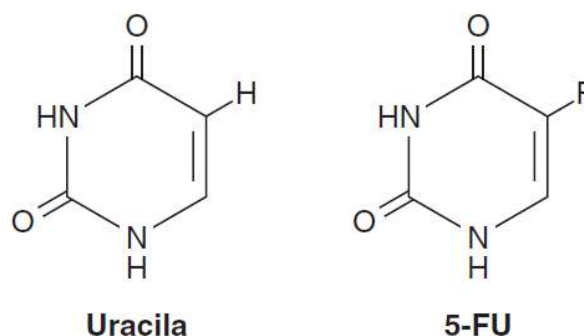
A toxicidade às células do câncer pelos quimioterápicos ocorre principalmente na fase S, síntese do DNA ou durante a fase M (mitose). O efeito das drogas citotóxicas é mais pronunciado em células que exibem alta taxa mitótica, sendo que o efeito dos quimioterápicos ocorrem não só nas células do câncer, mas também nos demais grupos de células do organismo que possuem taxa mitótica elevada, como no caso da medula óssea, folículos pilosos e epitélio do trato digestivo (Xie et al., 2020).

Os antimetabólitos têm estruturas semelhantes às moléculas de ocorrência natural usadas na síntese de ácidos nucleicos. Geralmente induzem a morte celular durante a fase S do crescimento celular quando incorporados ao RNA (ácido ribonucleico) e ao DNA ou inibem as enzimas necessárias para a produção de ácidos nucleicos, este grupo inclui: as pirimidinas ou análogos de purina e os antifolatos (Rang et al., 2015). Na classe das fluoropirimidinas, está o 5-FU é o agente mais usado no tratamento do câncer colorretal e mama. Aproximadamente, 2 milhões de pacientes são tratados anualmente com este composto em todo o mundo, tanto como terapia adjuvante como para a doença avançada. O 5-FU pode inibir a proliferação celular em 85%, matando seletivamente as células tumorais. Por estes motivos, o 5-FU tornou-se um medicamento anticâncer essencial usado para tratar vários tipos de neoplasias, devido sua ampla atividade antitumoral, bem como seu sinergismo com outros medicamentos anticâncer. Este fármaco possui atividade contra uma ampla variedade de tumores sólidos, incluindo cânceres de mama, estômago, pâncreas, esôfago, fígado, cabeça e pescoço e ânus (Ghafouri-Fard et al., 2021).

O 5-FU é um análogo do uracil com um átomo de flúor na posição C-5 no lugar do hidrogênio (Katzung & Trevor, 2017). Ele entra rapidamente na célula usando o mesmo mecanismo de transporte facilitado que o uracil (Miura et al., 2010). O 5-FU é inativo em

sua forma original e exige ativação, por uma complexa serie de reações enzimáticas (Katzung & Trevor, 2017).

Figura 1 - Estrutura química da molécula de uracila e 5-FU.



Fonte: (Longley et al., 2003).

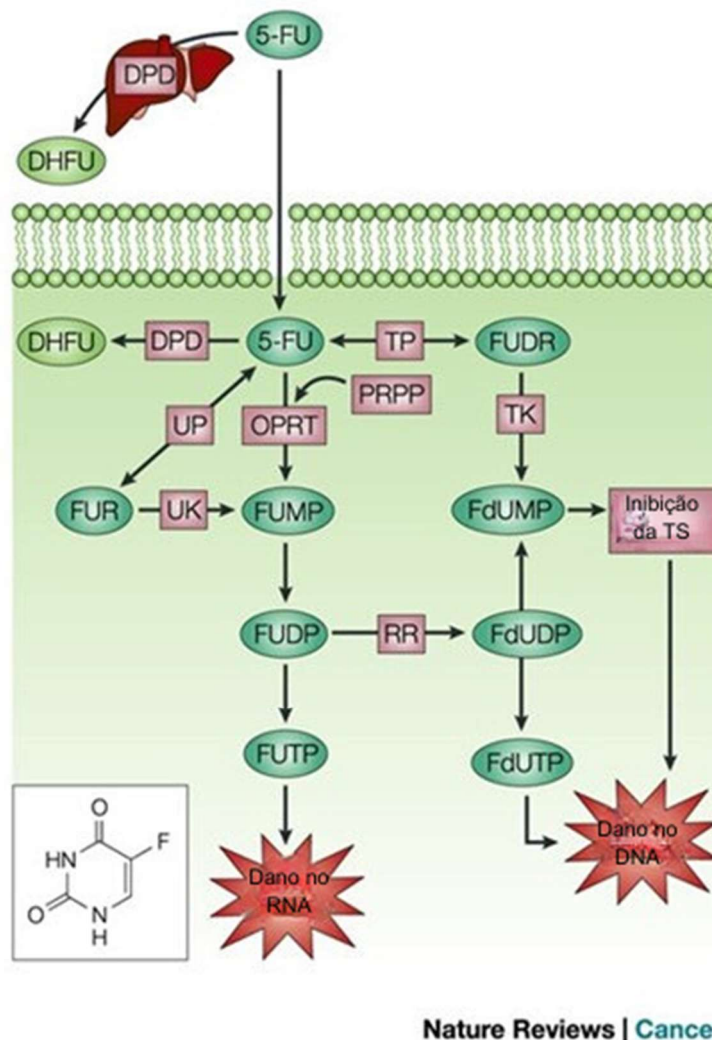
2.1.1 Farmacocinética e Farmacodinâmica

Existem várias rotas para o metabolismo da 5-FU, algumas das quais levam a ações de ativação e farmacodinâmica da droga. O passo de limitação da taxa do catabolismo de 5-FU é a conversão pela di-hidropirimidina desidrogenase (DPD) do 5-FU em di-hidrofluorouracil (DHFU). O DHFU é então convertido em fluoro-β-ureidopropionato (FUPA) e subseqüentemente em fluoro-β-alanina (FBAL) por di-hidropirimidinease (DPYS) e β-ureidopropionase (UPB1), respectivamente (Vodenkova et al., 2020).

O 5-FU é geralmente administrado por via intravenosa, em que mais de 80% é metabolizado no fígado (Thorn et al., 2011). Intracelularmente o 5-FU é convertido em três metabólitos ativos: monofosfato de fluorodeoxiuridina (FdMP), trifosfato de fluorodeoxiuridina (FdUTP) e trifosfato de fluorouridina (FUTP). O principal mecanismo de ativação do 5-FU é a conversão em fluorodeoxiuridina monofosfato (FdUMP), que inibe a enzima timidilato sintase (TS), uma parte importante do ciclo folato-homocisteína e síntese de purina e pirimidina (Gustavsson et al., 2015). A TS transfere o grupo metil do 5,10 – metileno-tetraidrofolato (CH₂-THF) para a deoxiuridina monofosfato (dUMP), formando a deoxitimidina monofosfato (dTMP), a qual será convertida em deoxitimidina trifosfato (dTTP), um dos quatro deoxirribonucleotídeos essenciais para a síntese do DNA. Essa inibição leva a um desequilíbrio do trifosfato de desoxiuridina (dUTP) e

trifosfato de desoxitimidina (dTTP) e a um aumento na má incorporação de dUTP no DNA, gerando um desbalanço do pool de nucleotídeos (L. Zhang et al., 2019). Além disso, o 5-FU pode ser incorporado incorretamente no DNA das células, e o acúmulo de 5-FU no genoma, em vez da uracila, é um importante elemento de citotoxicidade. A citotoxicidade do 5-FU pela incorporação no RNA inibe o processamento do pré-RNA ribossômico, além de interromper a modificação pós-transcricional de RNA transportador e a atividade de montagem do complexo RNA/proteína, inibindo assim o splicing do pré-RNA mensageiro. A incorporação do 5-FU em diferentes moléculas de RNA pode, por conseguinte, levar a perturbações de processamento de RNAm e síntese de proteínas. Após a incorporação do 5-FU no DNA, ele pode ser excisado pelo uracil-DNA-glicosilato seguido pela clivagem endonucleofílica apirimidínico-apurínico, resultando nas quebras das fitas do DNA (Longley et al., 2003).

Figura 2 - Mecanismo de citotoxicidade e metabolismo do 5-FU.



Fonte: Adaptado de (Longley et al., 2003).

A DPD é uma enzima presente no fígado, mucosa intestinal, rins e vários outros tecidos, esta enzima cataboliza 5-FU em 5,6-di-hidro-5-fluorouracil, levando finalmente à formação de ácido α -fluoro- β -ureido-propiónico e α -fluoro- β -alanina, sendo o passo inicial e limitante de velocidade do seu catabolismo em células normais e tumorais. A deficiência da DPD resulta a um aumento da toxicidade do 5-FU, que inclui principalmente diarreia, mucosite e neurotoxicidade, cardiotoxicidade, além de morte. O aumento da atividade do DPD pode levar à resistência ao 5-FU (Rang et al., 2015).

Na década de 1960 e no início da década de 1970, a associação de fármacos com base nas ações bioquímicas conhecidas dos agentes antineoplásicos disponíveis começou a ganhar destaque. O uso da poliquimioterapia possibilita uma destruição máxima das células dentro da faixa de toxicidade tolerada pelo paciente para cada fármaco e proporciona uma maior faixa de interação entre fármacos e células tumorais com diferentes anormalidades genéticas em uma população tumoral heterogênea, impedindo a resistência celular aos fármacos. Embora o 5-FU pode ser usado como agente único em pacientes com câncer colorretal metastático com uma taxa de resposta em torno de 20%, a administração de combinações de irinotecano, ácido folínico ou oxaliplatina com 5-FU resulta em resposta significativamente aumentada (Cremolini et al., 2015).

2.2 A patobiologia da mucosite

As drogas citotóxicas induzem a morte celular em tumores e tecidos saudáveis via apoptose. As células de proliferação rápida são mais suscetíveis, o que significa que a mucosa oral e gastrointestinal é particularmente vulnerável (Villa & Sonis, 2015). A mucosite é definida como uma complicação decorrente da radioterapia e da quimioterapia que ocorre no revestimento mucoso do trato gastrointestinal e da mucosa oral e orofaríngea (Sonis, 2009). Esta condição não é simplesmente uma consequência da morte celular inespecífica, mas representa uma ampla gama de manifestações clínicas, devido a uma série complexa de eventos biológicos interativos que ocorrem após a exposição aos quimioterápicos (Akbarali et al., 2022).

Para compreender melhor o desenvolvimento da mucosite, Sonis (2004) propôs um modelo didático da sua patobiologia, que é envolvida por uma sequência de eventos biológicos, em cinco fases que não são fragmentadas, mas concomitantes, que inclui as fases de iniciação, resposta a danos primários, amplificação de sinais, ulceração e cicatrização (Sonis, 2004b).

A fase de iniciação ocorre logo após a administração do quimioterápico, que ao ser metabolizado, incorpora-se às moléculas de DNA/RNA, ou pela radiação, que também promove danos estruturais ao DNA/RNA e outras moléculas. A lesão não-DNA também ocorre pela geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são iniciadoras de uma série de eventos de oxidação que resultam em danos celulares causando a morte das células epiteliais basais. A radiação e a quimioterapia são ativadores eficazes de várias

vias produtoras de lesões nos endotélios, fibroblastos e epitélios (Keefe et al., 2008; Sonis, 2004b). Durante a segunda fase, de resposta a danos primários, ocorre uma série de eventos biológicos em interação. As vias de transdução desencadeadas por quebras de fita de DNA e peroxidação lipídica promovem a ativação de vários fatores de transcrição, como fator nuclear kappa b (NF- κ B), Wnt, p53 e pelo menos 14 vias canônicas associadas (Stringer et al., 2009). A via do NF- κ B é uma das mais estudadas até o momento e que pode ser ativada diretamente por quimioterapia e radiação, ou indiretamente por moléculas padrão associadas a danos endógenos e ROS levando a expressão de até 200 genes (Abeesh & Guruvayoorappan, 2023). Os genes, por conseguinte, estão associados à produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-1 β e TNF- α , outros moduladores de citocinas e mediadores, como COX-2, NO-sintase induzível, superóxido dismutase (Al-Dasooqi et al., 2013).

Na fase de amplificação, muitas das moléculas produzidas durante a fase de resposta primária fornecem feedback positivo para vias destrutivas. Particularmente eficazes, são as citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , que não apenas é destrutivo por si só, mas também é um forte ativador do fator NF- κ B, promovendo um loop de feedback positivo que amplifica os efeitos originais da radiação e quimioterapia (Villa & Sonis, 2015). O NF- κ B amplifica também a resposta de sinalização da proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK), levando à ativação da sinalização de junN-terminal quinase (JNK). Os eventos correm simultaneamente e por meio de uma série de redes nas quais alguns genes são mais controladores e críticos do que outros (Sonis, 2004b). Além disso, as vias apoptóticas são ativadas nas células epiteliais submucosas e basais juntamente com os danos diretos e indiretos às células-tronco epiteliais, ocorre a perda da capacidade de renovação. Como resultado, o epitélio começa a ter transformações atróficas e os pacientes começam a sentir os primeiros sintomas da mucosite (Scully et al., 2006).

O quarto estágio é o mais clinicamente dramático para o paciente, a fase ulcerativa se desenvolve onde clinicamente há uma violação do epitélio. Os pacientes desenvolvem feridas profundas, dor significativa e sintomas abdominais (Sonis, 2009). A ulceração ocorre como uma consequência dos mecanismos diretos e indiretos mencionados acima, causando danos e alterações apoptóticas no epitélio da mucosa (Logan et al., 2007). As bactérias indígenas colonizam as úlceras e contribuem ativamente para o desenvolvimento da mucosite. Os produtos da parede celular (lipopolissacarídeos,

antígenos da parede celular e α -glucanos) penetram na submucosa, agora rica em macrófagos, estimulam uma maior amplificação da produção de citocinas, levando a potencialização da lesão tecidual (Logan et al., 2007; Sonis, 2004b). Na fase de cura, as úlceras cicatrizam espontaneamente. A resolução da úlcera é o resultado de um processo biológico ativo no qual a sinalização da matriz extracelular da submucosa orienta a proliferação, migração e diferenciação do epitélio adjacente à úlcera. Um exsudato intersticial e os restos de células e fibrina, que resultam em uma pseudomembrana que se fecha com o decorrer dos dias (Al-Ansari et al., 2015). Ocorre a interação e ativação a atividade tirosina quinase intrínseca, bem como a ativação de proteínas intracelulares de relevância funcional. Nesta etapa também ocorre a restauração da microbiota local (Logan et al., 2007),

2.2.1 Aspectos clínicos e epidemiológicos da mucosite

Os dados de prevalência e incidência de mucosite são inconsistentes devido à falta de critérios padronizados de pontuação, localização do tumor e diferentes regimes de tratamento (Keefe et al., 2008). Mesmo a incidência de mucosite sendo uma condição subnotificada (Cinausero et al., 2017a), estudos apontam que esta condição ocorre em 15% dos pacientes que recebem tratamentos de baixo risco e até 60% a 100% dos pacientes que estão sendo tratados com altas doses quimioterapia e radioterapia (Scully et al., 2006). Acredita-se que a subnotificação, especialmente de pacientes em tratamento com quimioterapia cíclica para tumores sólidos, ocorra devido a falta de observação direta dos indivíduos entre os ciclos de tratamento. Existe também uma certa relutância por parte dos pacientes em comprometer sua terapia contra o câncer em prol da toxicidade, e outro fato curioso, se deve a atenção dos oncologistas na morte de tumores negligenciando a toxicidade do tratamento (Scully et al., 2006).

Com o aumento da morbidade dos pacientes com mucosite, destaca-se também os custos econômicos e de saúde. Os indivíduos com mucosite têm mais dias de febre, uso de antibióticos, opióides e nutrição parenteral (Elad et al., 2020). É importante ressaltar que o tempo de internação aumenta acentuadamente, resultando em taxas hospitalares que superam as dos pacientes sem mucosite. Em pacientes submetidos ao Transplante de células-tronco hemopoiéticas (TCTH) mieloablativo, a mucosite predispõe à febre, complicações infecciosas e, ocasionalmente, está associada à mortalidade (Murphy et al., 2020).

Agentes quimioterápicos citotóxicos específicos, como o 5-FU e Irinotecano, estão associados a quadros de mucosites mais graves. No tratamento do câncer colorretal metastático, os esquemas de primeira linha geralmente incluem fluoropirimidinas (5-FU ou capecitabina) juntamente com leucovorina e oxaliplatina (FOLFOX e FLOX) ou irinotecano (FOLFIRI e IFL), estando associados a quadros mais debilitantes (Logan et al., 2007). Por outro lado, existem regimes quimioterápicos que são mais leves e causam toxicidade da mucosa, em 10 a 15%, dos pacientes tratados. No entanto, dado o número de pessoas que recebem quimioterapia, isso ainda representa um número significativo de pacientes afetados por mucosite (Nies et al., 2015). De particular importância clínica, a diarreia induzida por quimioterapia, é relatada como um evento adverso grave com uma frequência de 5 a 47% dos pacientes que realizaram o tratamento quimioterápico (Andreyev et al., 2014). Os efeitos tóxicos causados pelo 5-FU dependem da dose e do regime terapêutico. No caso de infusões em bolus, a diarreia grau 3-4 ocorre com maior frequência, a adição pró-fármacos com a leucovorina aumenta ainda mais a sua ocorrência. Os fatores clínicos preditivos para diarreia induzida por 5-FU são relacionados ao sexo feminino, idade, índice de massa corporal, origem étnica e diabetes mellitus.

As tentativas de prevenir e tratar a mucosite ganharam impulso nos ambientes científico e clínico. Infelizmente, a maioria dos estudos até o momento tiveram limitações significativas e as estratégias profiláticas e terapêuticas limitadas (Kostler et al., 2001). Embora uma variedade de novas abordagens tenha sido adotada, uma única intervenção ou agente eficaz para a profilaxia ou tratamento da mucosite induzida por radioterapia ou quimioterapia ainda não foi identificada (Lalla et al., 2014). Embora, nenhum medicamento tenha sido capaz de tratar a mucosite com sucesso, o manejo dos sintomas da dor com soluções anestésicas, analgésicos e agentes anti-inflamatórios podem proporcionar alívio do problema (Chaveli-Lopez & Bagan-Sebastian, 2016; Saunders et al., 2013). Estratégias que incluem a utilização de antimicrobianos em intervenções para a mucosite são crescentes nos centros de tratamentos dos pacientes. Acredita-se que intervenções antimicrobianas podem ajudar a interromper a cascata de eventos que culmina no desenvolvimento da mucosite e, assim, prevenir ou reduzir as manifestações clínicas correspondentes (Papanicolas et al., 2018). No entanto, existe também uma preocupação que está relacionada com o surgimento de patógenos resistentes a antimicrobianos.

Existe uma infinidade de outros agentes que foram estudados e estão atualmente sob investigação para a aplicação no manejo da mucosite, incluindo terapias físicas como crioterapia e laser de baixa frequência, modificadores de resposta biológica, imunomoduladores e produtos naturais como extratos de plantas, mel, vitaminas A, E, C, aloe vera, camomila, glutamina e muitos outros, bem como probióticos que compreendem uma variedade de microrganismos (A. S. Ferreira et al., 2022).

2.3 *Estatinas*

A descoberta das estatinas ocorreu na década de 1970, quando Endo e Kuroda, na busca por compostos redutores de colesterol, identificaram um produto a partir do fungo *Penicillium citrinium*, denominado ML-236B (mevastatina). Investigações adicionais revelaram que este composto inibiu potentemente a enzima limitadora da taxa na biossíntese do colesterol, a 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyma A (HMG-CoA) (Gelissen & McLachlan, 2014). Na sua forma ativa, a mevastatina assemelha-se ao precursor do colesterol, HMG-CoA. Quando a mevastatina foi inicialmente administrada em ratos, ela inibiu a biossíntese do colesterol com um K_i de 1,4 nM. Infelizmente, também causou toxicidade hepatocelular inaceitável e o desenvolvimento clínico posterior foi interrompido. Posteriormente, um metabólito fúngico mais ativo, a lovastatina, foi isolado de *Aspergillus terreus*. A lovastatina difere da mevastatina por ter um grupo metil substituído, e tornou-se o primeiro dessa classe de agentes redutores do colesterol a ser aprovado para uso clínico em humanos (Liao & Laufs, 2005a). O mecanismo de inibição da HMG-CoA redutase se dá através de cadeias laterais que se ligam ao local ativo da enzima e bloqueiam o estado de transição substrato-produto da enzima. A inibição desta enzima resulta na diminuição da síntese de colesterol e outros produtos a jusante do mevalonato (T. Zhang et al., 2019).

Por meio da inibição da HMG-CoA redutase, as estatinas impedem a produção endógena de colesterol. Além disso, a redução na concentração de colesterol dentro dos hepatócitos desencadeia a regulação positiva da expressão do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDL), que promove a captação de LDL e precursores de LDL da circulação sistêmica. Dessa forma, uma proporção significativa da redução do colesterol pelas estatinas é resultado do aumento indireto na depuração de LDL do plasma, em oposição à biossíntese de colesterol reduzida. Mecanismos secundários de redução de lipoproteína induzida por estatina incluem a inibição da síntese hepática de apolipoproteína B e a

redução da síntese e secreção de lipoproteínas ricas em triglicerídeos (McFarland et al., 2014).

Ao inibir a HMG-CoA redutase, a síntese de mevalonato é reduzida e, como consequência, várias outras vias de isoprenóides são afetadas, sendo que eles são importantes modificadores pós-traducionais, moléculas-chave necessárias para o funcionamento normal dos processos celulares. Dentre os isoprenóides não esteróides, destacam-se farnesil pirofosfato, geranilgeranil pirofosfato, isopentanol adenosina, dolicol, cadeias laterais poliisoprenóides de ubiquinona e heme-A. Esses intermediários isoprenóides são essenciais para a ativação de várias proteínas intracelulares/de sinalização, como a subunidade γ das proteínas G heterotriméricas, lâminas nucleares e pequenas proteínas Ras ligadas a GTP e proteínas semelhantes a Ras, como Rho, Rab, Rac, Ral ou Rap (Kavalipati et al., 2015a). Inúmeras funções fisiológicas são afetadas pelos isoprenóides devido a influências na coenzima Q (cadeia respiratória mitocondrial), ubiquinona, que participa do transporte de elétrons mitocondriais, porções farnesil e geranilgeranil (modificações pós-traducionais da proteína), tRNAs de isopentenil (RNA transcrição) e dolicol (N-glicosilação da proteína) (Schachter, 2005).

Apesar de terem o mesmo mecanismo de ação e efeitos comparativos nos perfis de colesterol, as estatinas podem ser subdivididas em duas categorias: tipo I, estatinas derivadas de fungos (lovastatina, pravastatina, sinvastatina); ou tipo II, estatinas derivadas sinteticamente (fluvastatina, cerivastatina, atorvastatina, rosuvastatina, pitavastatina). As estatinas tipo I mantêm a porção lactona/ácido aberto além do esqueleto do anel de decalina substituído. Embora as estatinas do tipo II mantenham a porção lactona semelhante à HMG-CoA para ligação, esses compostos são inibidores totalmente sintéticos da HMG-CoA redutase e exibem propriedades farmacocinéticas altamente variadas, incluindo diferenças no metabolismo, excreção, meias-vidas, biodisponibilidade, tempos de dosagem e lipofilicidade (McKenney, 2003).

Todas as estatinas são absorvidas rapidamente após a administração, atingindo o pico de concentração plasmática em 4 h. O mecanismo de transporte das estatinas lipofílicas é por difusão passiva, enquanto as estatinas hidrofílicas o transporte ocorre por meio de difusão facilitada. A natureza lipofílica das estatinas induz a passagem através de células extra-hepáticas. Com exceção da pravastatina, todas as estatinas são amplamente ligadas

às proteínas plasmáticas e são relativamente hepatoseletivas em relação à inibição da HMG-CoA redutase, uma propriedade importante, visto que a maior parte da produção endógena de colesterol ocorre no fígado (Schachter, 2005).

As estatinas são predominantemente metabolizadas pela família de enzimas do citocromo P 450 (CYP450) pela isoenzima CYP3A4. A via predominante de eliminação para a maioria das estatinas ocorre pela bile após o metabolismo pelo fígado. A quantidade de estatina excretada na urina é desprezível (Kitzmiller et al., 2016). Com exceção da atorvastatina, a meia-vida de eliminação de todas as estatinas é muito curta (0,5–3 horas) e nenhum fármaco se acumula no plasma com a administração repetida. Deve-se ressaltar que as meias-vidas farmacocinéticas relatadas das estatinas não correspondem à duração do seu efeito farmacodinâmico (aproximadamente 24 horas), devido à sua meia-vida de eliminação e à presença de níveis plasmáticos detectáveis de metabólitos ativos por um período prolongado de tempo (> 24 horas) (Liu et al., 2019).

Avaliações de segurança derivadas dos programas de desenvolvimento clínico para as estatinas reiteram que elas são geralmente seguras e bem toleradas. Nos principais ensaios clínicos randomizados, a taxa de descontinuação devido a qualquer efeito adverso entre os receptores de estatina foi relatada em menos de 2%, sendo que essa classe de medicamentos está associada a boa adesão e tolerabilidade (Armitage, 2007).

Os efeitos adversos que são mais documentados associados às estatinas, são a toxicidade muscular, incluindo miopatia e rabdomiólise, efeitos renais e nas enzimas hepáticas. O efeito adverso mais sério associado à terapia com estatinas é a miopatia, devido a influência das estatinas sobre a atividade da enzima Q10, importante na função mitocondrial muscular, no entanto, este efeito tem incidência baixa (menos de 0,1%). Em relação a toxicidade hepática, desde a primeira introdução de estatinas, ficou claro que uma pequena porcentagem de pacientes experimenta um aumento das enzimas hepáticas que é frequentemente autolimitado, pois metade dos pacientes tem resolução espontânea, enquanto metade dos casos é resolvida com uma redução na dose (Brown, 2008). Sobre os efeitos na função renal, a ocorrência de proteinúria com alta dose é relatada. Entretanto, tal proteinúria pode correr de forma transitória em 1,3% com a terapia com rosuvastatina em pacientes que tomaram a dose de 40 mg/dia. Não há evidência de comprometimento permanente da função renal após a terapia com estatinas. De fato, uma excreção melhorada de creatinina foi encontrada em vários estudos que demonstraram a redução

significativa da creatinina e um aumento na taxa de filtração glomerular de pacientes em terapia hipolipemiante (Armitage, 2007).

É frequentemente mencionado na literatura a íntima relação entre a toxicidade das estatinas e os polimorfismos genéticos nas enzimas CYP hepáticas. As CYP são transportadoras de drogas envolvidas no metabolismo das estatinas podem afetar a sua farmacocinética causando maior toxicidade (Kitzmilller et al., 2016). Por outro lado, medicamentos, como gemfibrozil, amiodarona, desloratadina, lidocaína, varfarina, metoprolol e indutores, foram identificados como inibidores do CYP2C8, que afetam o metabolismo das estatinas podendo aumentar a concentração plasmática. Em pacientes com doença hepática, a atorvastatina, pravastatina, fluvastatina e a sinvastatina podem se acumular, elevando os níveis plasmáticos dessas estatinas e aumentando o risco de efeitos adversos. A doença renal pode atrasar a eliminação de cerivastatina, lovastatina e sinvastatina (Bolego et al., 2002).

2.3.1 Efeitos pleotrópicos das estatinas

Um crescente corpo de evidências sugere que alguns dos benefícios clínicos da terapia com estatinas podem ser atribuídos a mecanismos independentes de seus efeitos redutores de colesterol, sendo chamados “efeitos pleiotrópicos” que são definidos como, múltiplos efeitos secundários de um composto (Kavalipati et al., 2015a). Acredita-se que tais efeitos incluam ações anti-inflamatórias, propriedades que revertem a disfunção endotelial pela prevenção da oxidação do LDL e aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico. Outras atividades benéficas das estatinas são ligadas a ação antioxidante, controle da coagulação, redução da agregação plaquetária, bem como propriedades antiproliferativas e imunossupressoras. Tais efeitos levam a uma nova face de perspectivas da terapia com estatinas, que as torna muito importantes não apenas no tratamento de dislipidemias e doenças associadas, mas também no auxílio do controle de complicações em muitos outros estados de doença (Bradbury et al., 2018).

Uma das questões-chave da literatura é definir e articular o mecanismo de ação pelo qual as estatinas exercem seus efeitos pleiotrópicos. Devido à multiplicidade de vias nas quais as estatinas foram implicadas e afetam, há muito debate na literatura sobre os efeitos pleiotrópicos das estatinas (anti-inflamatório, anti-oxidativo e imunomodulação). Acredita-se que são resultado direto da inibição da síntese do colesterol e resultado indireto da perda do grupo prenil ou de uma combinação dos dois, resultando em

diferenças na permeabilidade e metabolismo dos tecidos (Bedi et al., 2016). As estatinas mais comumente estudadas são as estatinas lipofílicas, especificamente a sinvastatina, pois acredita-se que ela penetre efetivamente nas células vasculares por difusão passiva, permitindo os efeitos pleiotrópicos. Em contraste, as estatinas hidrofílicas são direcionadas principalmente para o fígado e sofrem degradação, o que pode potencialmente diminuir sua pleiotropicidade (Bradbury et al., 2018).

A inibição da síntese do colesterol ocorre como resultado da prevenção do mevalonato de produzir HMG-CoA, uma vez que o mevalonato não é um precursor imediato da síntese do colesterol e também atua como precursor de várias outras moléculas-chave necessárias para o funcionamento normal dos processos celulares. Além da síntese do colesterol, o mevalonato é necessário para a produção de intermediários isoprenóides não-esteróides, como o pirofosfato de farnesil (FPP) e geranylgeranylpirofosfato (GGPP), cadeias laterais de isopentanol adenosina, dolichóis e poliisoprenóides de ubiquinona e heme-A. Esses intermediários isoprenóides são parte integrante da modificação e ativação pós-tradução de várias proteínas intracelulares sinalizadoras, como a subunidade γ das proteínas G heterotriméricas, heme-A, lâminas nucleares, pequenas proteínas Ras, Rho, Rab, Rac, Ral ou Rap (Bedi et al., 2016; Bradbury et al., 2018).

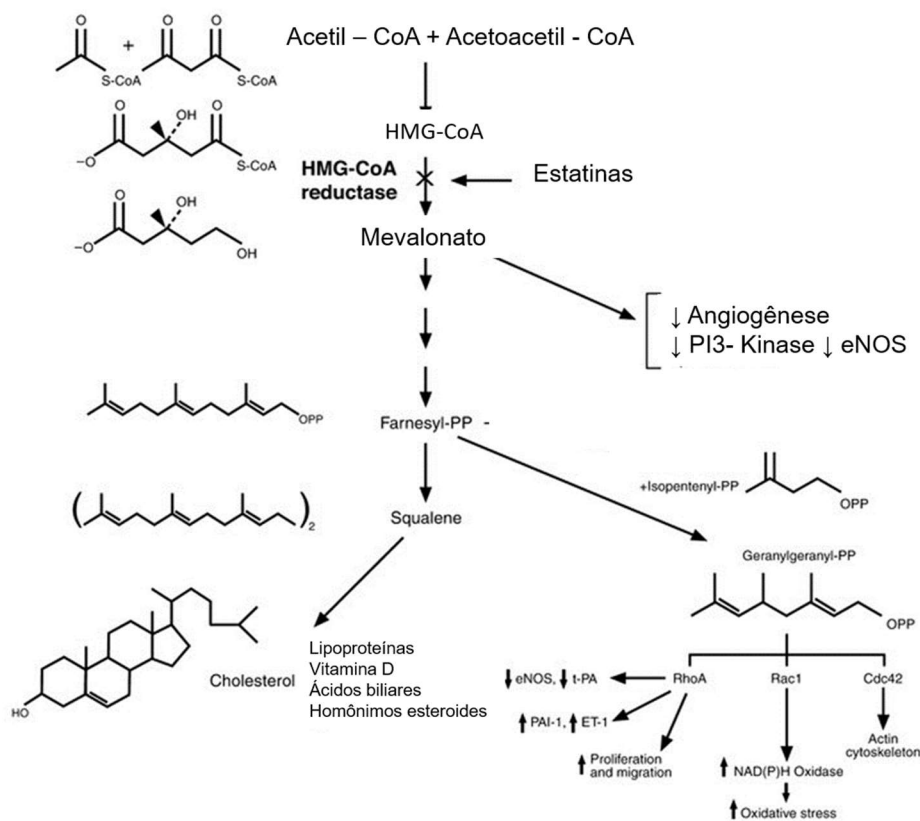
Os prenóides são importantes modificadores pós-traducionais que se ligam covalentemente a proteínas específicas para facilitar a associação de proteínas com a membrana lipídica. Assim, enquanto as estatinas bloqueiam diretamente a atividade da HMG-CoA redutase para inibir a síntese de colesterol, também inibem indiretamente a síntese de prenóides. Como resultado, as estatinas agem modulando várias vias de sinalização intracelular que regulam a inflamação, o estresse oxidativo e a imunidade (Liao & Laufs, 2005a).

O processo conhecido como a isoprenilação de proteínas ocorre em proteínas contendo um CaaX C-terminal, onde C é cisteína, a é um aminoácido alifático e X é qualquer aminoácido. No genoma humano, existem mais de 100 proteínas preniladas contendo CaaX conhecidas e hipotéticas. A isoprenilação da proteína permite a fixação covalente, a localização subcelular e o tráfego intracelular de proteínas associadas à membrana. O grupo isoprenil lipofílico permite que essas proteínas se ancoram às membranas celulares, o que, na maioria das situações, é um requisito essencial para a função biológica. Membros da família Ras e Rho GTPase são os principais substratos para modificação

pós-tradução por prenilação. Essas pequenas proteínas de ligação ao GTP que fazem um ciclo entre o estado ligado ao GDP inativo e o estado ligado ao GTP ativo são reguladores importantes do citoesqueleto de actina e das vias de sinalização intracelular (figura 3) (German & Liao, 2023).

A translocação de Ras do citoplasma à membrana plasmática depende da farnesilação, enquanto Rho a translocação depende da geranylgeranilação. As estatinas inibem tanto isoprenilação de Ras e Rho, levando ao acúmulo dessas proteínas inativas no citoplasma. As proteínas Ras e Rho desempenham um papel indispensável em vários processos celulares como sinalização celular, diferenciação e proliferação celular, mielinização, dinâmica do citoesqueleto e transporte endocítico / exocítico. A inibição dessas proteínas também é um importante mediador dos efeitos pleotrópicos das estatinas (Bedi et al., 2016; German & Liao, 2023).

Figura 3: Efeitos da inibição da enzima HMG-CoA redutase pelas estatinas.



Fonte: Adaptado (Bahrami et al., 2020; Liao & Laufs, 2005).

Os membros da família Rho também promovem efeitos na sinalização celular, como a reorganização do citoesqueleto de actina, que pode afetar o transporte intracelular, tráfego de membranas, estabilidade do mRNA e a transcrição de genes. Portanto, não é surpreendente descobrir que as alterações induzidas por Rho no citoesqueleto de actina e na expressão gênica estão diretamente relacionadas. Evidências experimentais sugerem que a inibição da isoprenilação Rho medeia efeitos em leucócitos e células ósseas (Bu et al., 2011).

Em princípio, essas propriedades anti-inflamatórias podem ocorrer por meio de efeitos em vários tecidos e tipos de células. Por exemplo, o fígado é um importante local de ação das estatinas, particularmente no que diz respeito à inibição da produção de colesterol. No entanto, o hepatócito também é uma fonte robusta de mediadores pró-inflamatórios e a redução na expressão desses fatores pelas estatinas pode ser um importante mecanismo de ação (Jain, e Ridker, 2005). Estudos demonstraram que as estatinas bloqueiam os efeitos da IL-6, que estimula a síntese de reagentes da fase aguda hepática, incluindo a proteína C-reativa (PCR) (Almog et al., 2004).

As estatinas também mostram efeitos imunomoduladores, que incluem a diminuição da proliferação de células T, redução da expressão induzida por interferon- γ do complexo de histocompatibilidade 2 (MHCII) em macrófagos, células endoteliais e células apresentadoras de antígenos, também reduziram a produção de citocinas inflamatórias, como TNF- α , Il-1 β ou Il-6, IL-8. Evidências apontam que as estatinas podem interromper o ciclo de estresse oxidativo/inflamação diminuindo a liberação de mediadores inflamatórios e a peroxidação lipídica. A administração crônica de estatinas também pode inibir o receptor ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR) α e γ podendo auxiliar na diminuição da inflamação vascular e na rejeição após transplantes (Rashidian et al., 2016c; Toth & Banach, 2019).

Inúmeros estudos relatam o efeito anti-inflamatório das estatinas nas doenças reumáticas, devido à ação inibitória contra a indução de várias citocinas pró-inflamatórias (Liao & Laufs, 2005a). O mecanismo envolvido na inibição de citocinas está relacionado com supressão da atividade de NF- κ B, que ocorre devido a regulação negativa da ativação de proteínas relacionadas à Rho, uma vez que o NF- κ B sabidamente é ativado por via Rho GTPases. Dada a centralidade do NF- κ B em doenças inflamatórias, a capacidade das

estatinas de inibir NF- κ B pode apoiar a relevância clínica desses agentes como fármacos anti-inflamatórios (German & Liao, 2023).

Estudos demonstram que a terapia com estatina suprime a formação de superóxido e melhora a geração de NO pelas células endoteliais vasculares por meio da inibição da isoprenilação de Rac e Rho. A inibição na isoprenilação de Rho nas células endoteliais resulta principalmente em aumento da produção de NO (Mahalwar & Khanna, 2013). As ROS, incluindo superóxido, radical hidroxila, peróxido de hidrogênio e peroxinitrito são provavelmente antagonizadas pelo NO. Assim, as estatinas possuem propriedades antioxidantes aumentando a biodisponibilidade do NO, reduzindo a peroxidação lipídica e a produção de ROS (Kavalipati et al., 2015a). As estatinas reduzem o ácido tiobarbitúrico (TBA), um marcador de estresse oxidativo e a mieloperoxidase (MPO), uma enzima chave expressa em neutrófilos que gera espécies reativas de oxigênio o malondialdeído (MDA).

Dentre outros inúmeros benefícios das estatinas, estudos sugeriram potencial para tratar distúrbios neurológicos, incluindo a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla e os tumores cerebrais primários, devido a atividade antioxidante, anti-inflamatória e antiplaquetária e os efeitos no sistema de óxido nítrico sintase. Outros estudos ainda sugerem que as estatinas podem aumentar a massa óssea impulsionando a diferenciação e a atividade dos osteoblastos. Interessantemente as estatinas também têm sido apontadas como coadjuvantes na prevenção do câncer colorretal e melanoma, sendo que os possíveis efeitos anticancerígenos das estatinas envolvem a inibição da geranilgeranilação, principalmente das proteínas Rho. Os efeitos benéficos das estatinas na inibição da carcinogênese também têm relação com a atividade anti-inflamatória, imunomodulação e angiogênese (Côté-Daigneault et al., 2016). Outras hipóteses apontam ainda, a atividade das estatinas na prevenção do câncer colorretal em pacientes com doenças inflamatórias intestinais, por mecanismos relacionados a modulação da atividade da telomerase, retardando a senescência celular (Boccardi et al., 2013).

2.3.2 Atorvastatina

A atorvastatina é um inibidor sintético, de terceira geração, da HMG-CoA redutase que foi concebida em 1981, patenteada em 1985 e aprovada pela FDA em 1996 para uso médico. Vendida sob o nome de Lipitor pela empresa farmacêutica Pfizer, é um sal de

cálcio de [R-(R*,R*)]-2-(4-fluorofenil)- β ,-dihidroxi-5-(1-metiletil)-3-fenil-4-[(fenilamino) ácido carbonil]-1H-pirrole-1-heptanóico com a fórmula empírica de $(C_{33}H_{34}FN_2O_5)_2Ca \cdot 3H_2O$ (Shaghghi et al., 2022). Estatisticamente, em 2017, a atorvastatina tornou-se o segundo medicamento mais prescrito nos Estados Unidos, com mais de 104 milhões de prescrições (Markowska et al., 2020). Em humanos, 80 mg/dia de atorvastatina é a maior dose recomendada para o tratamento da hipercolesterolemia. A meia-vida de eliminação da atorvastatina é de aproximadamente 14 h, uma propriedade que contribui para a maior eficácia do medicamento. O fármaco tem uma biodisponibilidade de cerca de 14% e é superior 98% quando ligado as proteínas plasmáticas. O metabolismo da atorvastatina é realizado pelo citocromo P450 (CYP) 3A4, que produz derivados orto e para-hidroxilados e vários produtos de oxidação. Cerca de 70% da atividade inibidora da HMG-CoA redutase associada à atorvastatina foi atribuída aos seus metabólitos ativos orto e para-hidroxilados, que são equipotentes ao medicamento original (Macin et al., 2005). A atorvastatina foi bem tolerada em ensaios clínicos de longo prazo. Em estudos controlados por placebo, a incidência de eventos adversos foi de 18% em 1122 pacientes que receberam atorvastatina até 80 mg/dia, foi semelhante à dos pacientes que receberam placebo (18%; n = 270). Nenhum aumento relacionado à dose nos eventos adversos foi observado nesses estudos, e a segurança musculoesquelética, hepática e renal foi comprovada, sendo em geral eventos adversos raros (Malhotra & Goa, 2001). Em relação aos estudos farmacoeconômicos verificou-se que a atorvastatina é mais econômica do que a maioria dos outros inibidores da HMG-CoA redutase. A atorvastatina 10 mg/dia apresentou o menor custo de aquisição por redução percentual nos níveis de LDL-colesterol entre várias dosagens dos inibidores da HMG-CoA redutase investigados (Macin et al., 2005).

Muitos estudos foram conduzidos para investigar os efeitos anti-inflamatórios da atorvastatina em diferentes circunstâncias, sendo que é notável a atividade da atorvastatina contra placas de aterosclerose. Estudos destacam o potente efeito anti-inflamatório da atorvastatina, levando a redução rápida dos níveis de PCR e citocinas pró-inflamatórias (Malhotra & Goa, 2001; Shaghghi et al., 2022).

Em doenças inflamatórias intestinais a atorvastatina apresentou notável desempenho anti-inflamatório em modelos de colite TNBS por meio da inibição da via de sinalização TLR4/NF- κ B. Estudos também indicaram que atorvastatina é capaz de reduzir

significativamente a os níveis plasmáticos de PCR e quimiocinas em pacientes com doença de Crohn (Grip & Janciauskiene, 2009). Evidências disponíveis na literatura demonstraram que a atorvastatina aumentou a diversidade bacteriana e reverteu a abundância relativa de microrganismos que foram alterados com uma dieta rica em gordura. O tratamento com atorvastatina também produziu um efeito específico do medicamento na distribuição populacional de certas bactérias benéficas para a saúde intestinal (Khan et al., 2018).

REFERENCIAS

1. Abeesh, P., & Guruvayoorappan, C. (2023). NF- κ B as a Potential Target for the Treatment and Prevention of Mucositis. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 24(13), 1613–1622. <https://doi.org/10.2174/1389201024666230331121328>
2. Akbarali, H. I., Muchhala, K. H., Jessup, D. K., & Cheatham, S. (2022). Chemotherapy induced gastrointestinal toxicities (pp. 131–166). <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2022.02.007>
3. Aktunc, E., Kayhan, B., Arasli, M., Gun, B. D., & Barut, F. (2011). The effect of atorvastatin and its role on systemic cytokine network in treatment of acute experimental colitis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33(4), 667–675. <https://doi.org/10.3109/08923973.2011.559475>
4. Al-Ansari, S., Zecha, J. A. E. M., Barasch, A., de Lange, J., Rozema, F. R., & Raber-Durlacher, J. E. (2015). Oral Mucositis Induced By Anticancer Therapies. *Current Oral Health Reports*, 2(4), 202–211. <https://doi.org/10.1007/s40496-015-0069-4>
5. Al-Dasooqi, N., Sonis, S. T., Bowen, J. M., Bateman, E., Blijlevens, N., Gibson, R. J., Logan, R. M., Nair, R. G., Stringer, A. M., Yazbeck, R., Elad, S., & Lalla, R. V. (2013). Emerging evidence on the pathobiology of mucositis. *Supportive Care in Cancer*, 21(7), 2075–2083. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1810-y>
6. Almog, Y., Shefer, A., Novack, V., Maimon, N., Barski, L., Eizinger, M., Friger, M., Zeller, L., & Danon, A. (2004). Prior Statin Therapy Is Associated With a Decreased Rate of Severe Sepsis. *Circulation*, 110(7), 880–885. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138932.17956.F1>
7. Andreyev, J., Ross, P., Donnellan, C., Lennan, E., Leonard, P., Waters, C., Wedlake, L., Bridgewater, J., Glynne-Jones, R., Allum, W., Chau, I., Wilson, R., & Ferry, D. (2014). Guidance on the management of diarrhoea during cancer chemotherapy. *The Lancet Oncology*, 15(10), e447–e460. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70006-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70006-3)
8. Armitage, J. (2007). The safety of statins in clinical practice. *The Lancet*, 370(9601), 1781–1790. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60716-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60716-8)

9. Ashburn, T. T., & Thor, K. B. (2004). Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(8), 673–683. <https://doi.org/10.1038/nrd1468>
10. Bahrami, A., Bo, S., Jamialahmadi, T., & Sahebkar, A. (2020). Effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on ageing: Molecular mechanisms. *Ageing Research Reviews*, 58, 101024. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101024>
11. Bedi, O., Dhawan, V., Sharma, P. L., & Kumar, P. (2016). Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 389(7), 695–712. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1252-4>
12. Boccardi, V., Barbieri, M., Rizzo, M. R., Marfella, R., Esposito, A., Marano, L., & Paolisso, G. (2013). A new pleiotropic effect of statins in elderly: modulation of telomerase activity. *The FASEB Journal*, 27(9), 3879–3885. <https://doi.org/10.1096/fj.13-232066>
13. Bolego, C., Baetta, R., Bellosa, S., Corsini, A., & Paoletti, R. (2002). Safety considerations for statins. *Current Opinion in Lipidology*, 13(6), 637–644. <https://doi.org/10.1097/00041433-200212000-00007>
14. Bradbury, P., Traini, D., Ammit, A. J., Young, P. M., & Ong, H. X. (2018). Repurposing of statins via inhalation to treat lung inflammatory conditions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 133, 93–106. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.06.005>
15. Brianna, & Lee, S. H. (2023). Chemotherapy: how to reduce its adverse effects while maintaining the potency? *Medical Oncology*, 40(3), 88. <https://doi.org/10.1007/s12032-023-01954-6>
16. Brown, W. V. (2008). Safety of statins. *Current Opinion in Lipidology*, 19(6), 558–562. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328319baba>
17. Bu, D., Griffin, G., & Lichtman, A. H. (2011). Mechanisms for the anti-inflammatory effects of statins. *Current Opinion in Lipidology*, 22(3), 165–170. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283453e41>

18. Chaveli-Lopez, B., & Bagan-Sebastian, J. (2016). Treatment of oral mucositis due to chemotherapy. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 0–0. <https://doi.org/10.4317/jced.52917>
19. Cinausero, M., Aprile, G., Ermacora, P., Basile, D., Vitale, M. G., Fanotto, V., Parisi, G., Calvetti, L., & Sonis, S. T. (2017). New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00354>
20. Côté-Daigneault, J., Mehandru, S., Ungaro, R., Atreja, A., & Colombel, J.-F. (2016). Potential Immunomodulatory Effects of Statins in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(3), 724–732. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000640>
21. Cremolini, C., Schirripa, M., Antoniotti, C., Moretto, R., Salvatore, L., Masi, G., Falcone, A., & Loupakis, F. (2015). First-line chemotherapy for mCRC—a review and evidence-based algorithm. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 12(10), 607–619. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.129>
22. Dahlgren, D., Sjöblom, M., Hellström, P. M., & Lennernäs, H. (2021). Chemotherapeutics-Induced Intestinal Mucositis: Pathophysiology and Potential Treatment Strategies. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.681417>
23. Elad, S., Yarom, N., Zadik, Y., Kuten-Shorrer, M., & Sonis, S. T. (2022). The broadening scope of oral mucositis and oral ulcerative mucosal toxicities of anticancer therapies. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(1), 57–77. <https://doi.org/10.3322/caac.21704>
24. Ferreira, A. S., Macedo, C., Silva, A. M., Delerue-Matos, C., Costa, P., & Rodrigues, F. (2022). Natural Products for the Prevention and Treatment of Oral Mucositis—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4385. <https://doi.org/10.3390/ijms23084385>
25. Gelissen, I. C., & McLachlan, A. J. (2014). The pharmacogenomics of statins. *Pharmacological Research*, 88, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.12.002>

26. German, C. A., & Liao, J. K. (2023). Understanding the molecular mechanisms of statin pleiotropic effects. *Archives of Toxicology*, 97(6), 1529–1545. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03492-6>
27. Ghafouri-Fard, S., Abak, A., Tondro Anamag, F., Shoorei, H., Fattahi, F., Javadinia, S. A., Basiri, A., & Taheri, M. (2021). 5-Fluorouracil: A Narrative Review on the Role of Regulatory Mechanisms in Driving Resistance to This Chemotherapeutic Agent. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.658636>
28. Grip, O., & Janciauskiene, S. (2009). Atorvastatin Reduces Plasma Levels of Chemokine (CXCL10) in Patients with Crohn's Disease. *PLoS ONE*, 4(5), e5263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005263>
29. Guan, Z., Wu, K., Li, R., Yin, Y., Li, X., Zhang, S., & Li, Y. (2019). Pharmacogenetics of statins treatment: Efficacy and safety. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 44(6), 858–867. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13025>
30. Gustavsson, B., Carlsson, G., Machover, D., Petrelli, N., Roth, A., Schmoll, H.-J., Tveit, K.-M., & Gibson, F. (2015). A Review of the Evolution of Systemic Chemotherapy in the Management of Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*, 14(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2014.11.002>
31. Hua, Y., Dai, X., Xu, Y., Xing, G., Liu, H., Lu, T., Chen, Y., & Zhang, Y. (2022). Drug repositioning: Progress and challenges in drug discovery for various diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 234, 114239. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114239>
32. Huang, J., Hwang, A. Y. M., Jia, Y., Kim, B., Iskandar, M., Mohammed, A. I., & Cirillo, N. (2022). Experimental Chemotherapy-Induced Mucositis: A Scoping Review Guiding the Design of Suitable Preclinical Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 15434. <https://doi.org/10.3390/ijms232315434>
33. Jehn, P., Stier, R., Tavassol, F., Dittmann, J., Zimmerer, R., Gellrich, N.-C., Krüskemper, G., & Spalthoff, S. (2019). Physical and Psychological Impairments Associated with Mucositis after Oral Cancer Treatment and Their Impact on Quality of Life. *Oncology Research and Treatment*, 42(6), 342–349. <https://doi.org/10.1159/000499720>

34. Jourdan, J.-P., Bureau, R., Rochais, C., & Dallemagne, P. (2020). Drug repositioning: a brief overview. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(9), 1145–1151. <https://doi.org/10.1111/jphp.13273>
35. Katzung, B., & Trevor, A. (2017). *Farmacologia Básica e Clínica-13*. [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=rsw-DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Katzung,+B.+G.,+%26+Trevor,+A.+J.+\(2017\).+Farmacologia+B%C3%A1sica+e+Cl%C3%ADnica-13.+McGraw+Hill+Brasil.&ots=WN9ueKT-o0&sig=swMSK4fuRS_w0kLyWcn0pj1PLoY](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=rsw-DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Katzung,+B.+G.,+%26+Trevor,+A.+J.+(2017).+Farmacologia+B%C3%A1sica+e+Cl%C3%ADnica-13.+McGraw+Hill+Brasil.&ots=WN9ueKT-o0&sig=swMSK4fuRS_w0kLyWcn0pj1PLoY)
36. Kavalipati, N., Shah, J., Ramakrishan, A., & Vasnawala, H. (2015). Pleiotropic effects of statins. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 19(5), 554. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.163106>
37. Keefe, D. M., Sonis, S. T., & Bowen, J. M. (2008). Emerging drugs for chemotherapy-induced mucositis. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 13(3), 511–522. <https://doi.org/10.1517/14728214.13.3.511>
38. Khan, T. J., Ahmed, Y. M., Zamzami, M. A., Mohamed, S. A., Khan, I., Baothman, O. A. S., Mehanna, M. G., & Yasir, M. (2018). Effect of atorvastatin on the gut microbiota of high fat diet-induced hypercholesterolemic rats. *Scientific Reports*, 8(1), 662. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-19013-2>
39. Kitzmiller, J., Mikulik, E., Dauki, A., Mukherjee, C., & Luzum, J. (2016). Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, Volume 9, 97–106. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S86013>
40. Kobayashi, Y., Banno, K., Kunitomi, H., Nagai, S., Takahashi, T., Anko, M., Iijima, M., Takeda, T., Matoba, Y., Nakamura, K., Tsuji, K., Tominaga, E., & Aoki, D. (2019). Is antidyslipidemic statin use for cancer prevention a promising drug repositioning approach? *European Journal of Cancer Prevention*, 28(6), 562–567. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000497>
41. Kostler, W. J., Hejna, M., Wenzel, C., & Zielinski, C. C. (2001). Oral Mucositis Complicating Chemotherapy and/or Radiotherapy: Options for Prevention and

Treatment. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 51(5), 290–315.
<https://doi.org/10.3322/canjclin.51.5.290>

42. Kuderer, N. M., Desai, A., Lustberg, M. B., & Lyman, G. H. (2022). Mitigating acute chemotherapy-associated adverse events in patients with cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 19(11), 681–697. <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00685-3>

43. Lalla, R. V., Saunders, D. P., & Peterson, D. E. (2014). Chemotherapy or Radiation-Induced Oral Mucositis. *Dental Clinics of North America*, 58(2), 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2013.12.005>

44. Liao, J. K., & Laufs, U. (2005). PLEIOTROPIC EFFECTS OF STATINS. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1), 89–118. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095748>

45. Liu, A., Wu, Q., Guo, J., Ares, I., Rodríguez, J.-L., Martínez-Larrañaga, M.-R., Yuan, Z., Anadón, A., Wang, X., & Martínez, M.-A. (2019). Statins: Adverse reactions, oxidative stress and metabolic interactions. *Pharmacology & Therapeutics*, 195, 54–84. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.10.004>

46. Logan, R. M., Stringer, A. M., Bowen, J. M., Yeoh, A. S.-J., Gibson, R. J., Sonis, S. T., & Keefe, D. M. K. (2007). The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: Pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5), 448–460. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2007.03.001>

47. Longley, D. B., Harkin, D. P., & Johnston, P. G. (2003). 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), 330–338. <https://doi.org/10.1038/nrc1074>

48. Lotfi Shahreza, M., Ghadiri, N., Mousavi, S. R., Varshosaz, J., & Green, J. R. (2018). A review of network-based approaches to drug repositioning. *Briefings in Bioinformatics*, 19(5), 878–892. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx017>

49. Macin, S. M., Perna, E. R., Farías, E. F., Franciosi, V., Cialzeta, J. R., Brizuela, M., Medina, F., Tajer, C., Doval, H., & Badaracco, R. (2005). Atorvastatin has an important acute anti-inflammatory effect in patients with acute coronary syndrome:

Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *American Heart Journal*, 149(3), 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2004.07.041>

50. Mahalwar, R., & Khanna, D. (2013). Pleiotropic antioxidant potential of rosuvastatin in preventing cardiovascular disorders. *European Journal of Pharmacology*, 711(1–3), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.04.025>

51. Malhotra, H. S., & Goa, K. L. (2001). Atorvastatin. *Drugs*, 61(12), 1835–1881. <https://doi.org/10.2165/00003495-200161120-00012>

52. Markowska, A., Antoszczak, M., Markowska, J., & Huczyński, A. (2020). Statins: HMG-CoA Reductase Inhibitors as Potential Anticancer Agents against Malignant Neoplasms in Women. *Pharmaceuticals*, 13(12), 422. <https://doi.org/10.3390/ph13120422>

53. McFarland, A., Anoopkumar-Dukie, S., Arora, D., Grant, G., McDermott, C., Perkins, A., & Davey, A. (2014). Molecular Mechanisms Underlying the Effects of Statins in the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20607–20637. <https://doi.org/10.3390/ijms151120607>

54. McKenney, J. M. (2003). Pharmacologic characteristics of statins. *Clinical Cardiology*, 26(S3), 32–38. <https://doi.org/10.1002/clc.4960261507>

55. Medeiros, A. da C., Azevedo, Í. M., Lima, M. L., Araújo Filho, I., & Moreira, M. D. (2018). Efeitos da sinvastatina na mucosite gastrointestinal induzida por 5-fluorouracil em ratos. *Revista Do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 45(5). <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20181968>

56. Medeiros, C. A. C. X., Leitão, R. F. C., Macedo, R. N., Barboza, D. R. M. M., Gomes, A. S., Nogueira, N. A. P., Alencar, N. M. N., Ribeiro, R. A., & Brito, G. A. C. (2011). Effect of atorvastatin on 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67(5), 1085–1100. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1409-7>

57. Miura, K., Kinouchi, M., Ishida, K., Fujibuchi, W., Naitoh, T., Ogawa, H., Ando, T., Yazaki, N., Watanabe, K., Haneda, S., Shibata, C., & Sasaki, I. (2010). 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs. *Cancers*, 2(3), 1717–1730. <https://doi.org/10.3390/cancers2031717>

58. Murphy, C., Deplazes, E., Cranfield, C. G., & Garcia, A. (2020). The Role of Structure and Biophysical Properties in the Pleiotropic Effects of Statins. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8745. <https://doi.org/10.3390/ijms21228745>
59. Naito, Y., Katada, K., Takagi, T., Tsuboi, H., Isozaki, Y., Handa, O., Kokura, S., Yoshida, N., Ichikawa, H., & Yoshikawa, T. (2006). Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, reduces the colonic inflammatory response in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *International Journal of Molecular Medicine*, 17(6), 997–1004.
60. Nies, A. T., Magdy, T., Schwab, M., & Zanger, U. M. (2015). Role of ABC Transporters in Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy Response (pp. 217–243). <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2014.10.007>
61. Papanicolas, L. E., Gordon, D. L., Wesselingh, S. L., & Rogers, G. B. (2018). Not Just Antibiotics: Is Cancer Chemotherapy Driving Antimicrobial Resistance? *Trends in Microbiology*, 26(5), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.10.009>
62. Rang, R., Ritter, J., Flower, R., & Henderson, G. (2015). *Rang & Dale Farmacologia*. [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=XFieDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Rang,+R.,+Ritter,+J.+M.,+Flower,+R.+J.,+%26+Henderson,+G.+\(2015\).+Rang+%26+Dale+Farmacologia.+Elsevier+Brasil.&ots=yqLJIHwpN9&sig=AdMkRBkjF2LN2RCCEypZ7nQth8U](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=XFieDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Rang,+R.,+Ritter,+J.+M.,+Flower,+R.+J.,+%26+Henderson,+G.+(2015).+Rang+%26+Dale+Farmacologia.+Elsevier+Brasil.&ots=yqLJIHwpN9&sig=AdMkRBkjF2LN2RCCEypZ7nQth8U)
63. Rashidian, A., Muhammadnejad, A., Dehpour, A.-R., Mehr, S. E., Akhavan, M. M., Shirkoohi, R., Chamanara, M., Mousavi, S.-E., & Rezayat, S.-M. (2016). Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Inflammopharmacology*, 24(2–3), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0263-6>
64. Saunders, D. P., Epstein, J. B., Elad, S., Allemano, J., Bossi, P., van de Wetering, M. D., Rao, N. G., Potting, C., Cheng, K. K., Freidank, A., Brennan, M. T., Bowen, J., Dennis, K., & Lalla, R. V. (2013). Systematic review of antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, and analgesics for the management of oral mucositis in cancer patients. *Supportive Care in Cancer*, 21(11), 3191–3207. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1871-y>

65. Schachter, M. (2005). Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 19(1), 117–125. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2004.00299.x>
66. Scully, C., Sonis, S., & Diz, P. (2006). Oral mucositis. *Oral Diseases*, 12(3), 229–241. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2006.01258.x>
67. Serafin, M. B., & Hörner, R. (2018). Drug repositioning, a new alternative in infectious diseases. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 22(3), 252–256. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.05.007>
68. Shaghghi, Z., Alvandi, M., Farzipour, S., Dehbanpour, M. R., & Nosrati, S. (2022). A review of effects of atorvastatin in cancer therapy. *Medical Oncology*, 40(1), 27. <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01892-9>
69. Shankar, A., Roy, S., Bhandari, M., Rath, G. K., Biswas, A. S., Kanodia, R., Adhikari, N., & Sachan, R. (2017). Current Trends in Management of Oral Mucositis in Cancer Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 18(8), 2019–2026. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.8.2019>
70. Sonis, S. T. (2004). The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews Cancer*, 4(4), 277–284. <https://doi.org/10.1038/nrc1318>
71. Sonis, S. T. (2009). Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. *Oral Oncology*, 45(12), 1015–1020. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2009.08.006>
72. Sonis, S. T. (2021). Treatment for Oral Mucositis—Current Options and an Update of Small Molecules Under Development. *Current Treatment Options in Oncology*, 22(3), 25. <https://doi.org/10.1007/s11864-021-00823-6>
73. Stringer, A. M., Gibson, R. J., Logan, R. M., Bowen, J. M., Yeoh, A. S. J., Hamilton, J., & Keefe, D. M. K. (2009). Gastrointestinal Microflora and Mucins May Play a Critical Role in the Development of 5-Fluorouracil-Induced Gastrointestinal Mucositis. *Experimental Biology and Medicine*, 234(4), 430–441. <https://doi.org/10.3181/0810-RM-301>

74. Thorn, C. F., Marsh, S., Carrillo, M. W., McLeod, H. L., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). PharmGKB summary. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(4), 237–242. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32833c6107>
75. Toth, P. P., & Banach, M. (2019). Statins: Then and Now. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal*, 15(1), 23. <https://doi.org/10.14797/mdcj-15-1-23>
76. Villa, A., & Sonis, S. T. (2015). Mucositis. *Current Opinion in Oncology*, 27(3), 159–164. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000180>
77. Villa, A., & Sonis, S. T. (2020). An update on pharmacotherapies in active development for the management of cancer regimen-associated oral mucositis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 21(5), 541–548. <https://doi.org/10.1080/14656566.2020.1718652>
78. Vital, K. D., Cardoso, B. G., Lima, I. P., Campos, A. B., Teixeira, B. F., Pires, L. O., Dias, B. C., de Alcantara Candido, P., Cardoso, V. N., & Fernandes, S. O. A. (2023). Therapeutic effects and the impact of statins in the prevention of ulcerative colitis in preclinical models: A systematic review. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 37(3), 493–507. <https://doi.org/10.1111/fcp.12859>
79. Vodenkova, S., Buchler, T., Cervena, K., Veskrnova, V., Vodicka, P., & Vymetalkova, V. (2020). 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacology & Therapeutics*, 206, 107447. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107447>
80. Xie, P., Mo, J.-L., Liu, J.-H., Li, X., Tan, L.-M., Zhang, W., Zhou, H.-H., & Liu, Z.-Q. (2020). Pharmacogenomics of 5-fluorouracil in colorectal cancer: review and update. *Cellular Oncology*, 43(6), 989–1001. <https://doi.org/10.1007/s13402-020-00529-1>
81. Zhang, L., Jin, Y., Peng, J., Chen, W., Lisha, L., & Lin, J. (2019). Qingjie Fuzheng Granule attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal damage. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 118, 109223. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109223>
82. Zhang, T., Bai, R., Wang, Q., Wang, K., Li, X., Liu, K., Ryu, J., Wang, T., Chang, X., Ma, W., Bode, A. M., Xia, Q., Song, Y., & Dong, Z. (2019). Fluvastatin Inhibits HMG-CoA Reductase and Prevents Non-Small Cell Lung Carcinogenesis. *Cancer*

Prevention Research, 12(12), 837–848. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-19-0211>

3. OBJETIVO

3.1 *Objetivo geral*

O objetivo geral desse estudo foi avaliar o potencial terapêutico da atorvastatina na inflamação gastrointestinal induzida pelo quimioterápico 5- fluorouracil.

3.2 *Objetivos específicos*

Capítulo I

Descrever o papel das estatinas contra a inflamação gastrointestinal em modelos experimentais de colite ulcerativa por meio da realização de uma revisão sistemática.

Capítulo II

Avaliar os mecanismos moleculares envolvidos com o efeito enteroprotetor da atorvastatina na inflamação gastrointestinal induzida pelo quimioterápico 5-fluorouracil.

Avaliar o efeito da atorvastatina sobre o consumo alimentar e hídrico, evolução ponderal e permeabilidade intestinal nos animais com mucosite gastrointestinal.

Investigar a atividade da atorvastatina sobre o perfil inflamatório de animais com mucosite a partir do monitoramento de IgA secretória no fluido intestinal, enzimas mieloperoxidase (MPO) e peroxidase eosinofílica (EPO) e citocinas TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10 e TGF- β 1.

Analisar o estresse oxidativo ileal por meio do monitoramento dos níveis de SOD, glutationa peroxidase, TBARS e hidroperóxidos.

Monitorar o papel da atorvastatina sobre as vias moleculares Tlr4, Myd88, Nfkb1 (p105), iNos, Nlpr3, Muc2, zonulin, and occludin nos animais com mucosite.

Capítulo III

Avaliar o efeito protetor sistêmico, hepático e renal da atorvastatina entre os animais com mucosite gastrointestinal induzida por 5-FU.

Monitorar a função hepática dos animais com mucosite tratados com atorvastatina por meio de análises histológicas, bioquímicas e com técnicas de medicina nuclear.

CAPÍTULO I

THERAPEUTIC EFFECTS AND THE IMPACT OF STATINS IN THE PREVENTION OF ULCERATIVE COLITIS IN PRECLINICAL MODELS: A SYSTEMATIC REVIEW

Artigo completo publicado em *Fundamental & Clinical Pharmacology*

DOI: <https://doi.org/10.1111/fcp.12859>

Citação: VITAL, Kátia Duarte et al. Therapeutic effects and the impact of statins in the prevention of ulcerative colitis in preclinical models: A systematic review. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2022.

Therapeutic effects and the impact of statins in the prevention of ulcerative colitis in preclinical models: A systematic review

Kátia Duarte Vital¹, Barbara Gatti Cardoso¹; Iasmin Pinheiro Lima¹; Aline Beatriz Campos¹; Bruno Faria Teixeira¹; Luiz Octávio Pires¹; Beatriz Coutinho Dias¹; Patrícia de Alcantara Candido¹; Valbert Nascimento Cardoso¹; Simone Odília Antunes Fernandes¹

¹Laboratório de Radioisótopos. Departamento de Ciências Farmacêuticas e Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory condition of the large intestines. Although great advances have been made in the management of the disease with the introduction of immunomodulators and biological agents, the treatment of UC is still a challenge. So far, there are no definitive therapies for this condition. Statins are potent inhibitors of cholesterol biosynthesis, possess beneficial effects on primary and secondary prevention of coronary heart disease and have high tolerability and safety. Furthermore, they may have potential roles in UC management due to their possible anti-inflammatory, immunomodulatory, and antioxidant activities. This systematic review aimed to gather information about the potential benefits of statins for managing UC, reducing inflammation and disease remission in animal models. A systematic search was performed in PubMed / MEDLINE, Scopus, Web of Science, and Virtual Health Library. The data were summarized in tables and critically analyzed. After the database search, 21 relevant studies were identified as eligible for this review. Preclinical studies using several colitis-induction protocols and various statins have shown numerous beneficial effects of these drugs on reducing disease activity, inflammatory profile, oxidative stress, and general clinical parameters of animals with UC. These studies revealed the potential of statins against the pathogenesis of UC. However, there are still important gaps regarding the molecular mechanisms of action of statins, leading to some contradictory results. Thus, more research on the molecular level to determine the roles of statins in colitis should be carried out to elucidate their mechanisms of action.

Keywords: HMG-CoA Reductase Inhibitors, ulcerative colitis, inflammatory bowel diseases, Prevention and control

1 INTRODUCTION

Inflammatory bowel disease (IBD) is a complex and debilitating disease that can be subclassified into different multifactorial diseases, in which Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) represent the two broadest subtypes of IBD. Crohn's disease is characterized by transmural inflammation that involves any part of the gastrointestinal tract, while UC usually involves superficial inflammation of the rectum with extension in the adjacent mucosa in a continuous manner [1,2]. In both cases, patients usually experience abdominal pain, diarrhea, bloody stools, weight loss, and other extra-intestinal manifestations [3].

UC is characterized by recurrent episodes of inflammation limited to the mucous layer of the colon, in which abscesses occur in the crypt and ulceration of the mucosa and submucosa, particularly in the distal part of the colon [4]. Which makes the appropriate clinical management for the patient's condition mandatory, in which the goal is to induce and maintain the remission of the inflammation, provide relief of symptoms, and mucosal healing [5].

Statins are a group of compounds that inhibit 3-hydroxy-3-methyl glutaryl (HMG) -CoA reductase, an enzyme that participates in the synthesis of cholesterol [6]. In addition to reducing cholesterol levels, other effects, known as "pleiotropic", which are beneficial independent of cholesterol-lowering activity, have been identified in statins. They include anti-inflammatory, antiproliferative, antioxidant, immunomodulatory, neuroprotective and antithrombotic properties [7–10].

Several clinical trials using statins have been conducted to prove their application in IBD treatment [11–14]. Some of them demonstrated the potential benefits of statins for managing IBD, in which the repositioning of clinically available compounds can contribute to expanding the possibilities of treating this condition [15,16]. On the other hand, despite clinical evidence, there are still divergences in clinical and preclinical studies regarding the efficacy of statins. In particular, reports point to the paradoxical increase in disease activity in some patients with IBD after statin consumption and linkage of statins to IBD development [17]. Therefore, determining the roles of statins in UC is necessary [16,18]. In this context, we aim to assess the efficacy and effects of statins in experimental models of UC by conducting a systematic review.

4. METHODS

A systematic review was conducted in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement [19], in which the methods include data source and search, study selection, eligibility criteria, data extraction, analysis of results, and risk of bias.

To evaluate the effects of statins on colonic mucosal damage and the inflammatory response, we applied the PICOS strategy [20], as follows: “Population”: rodents with ulcerative colitis induced by isolated or combined chemotherapy regime; “Intervention”: administration of statins; “Control”: rodents with ulcerative colitis that did not receive statins; “Outcomes”: disease activity, inflammatory profile, oxidative stress, and general clinical parameters; “Study design”: in vivo studies conducted in rodents (mice and rats).

Initially, the systematic search was conducted in 4 databases (i.e., PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science, and Health Virtual Library) using the Medical Subject Heading (MeSH) term “Statin*” (‘HMG-CoA reductase inhibitor’ OR ‘HMG-CoA reductase inhibitors’ OR statin OR statins OR atorvastatin OR fluvastatin OR lovastatin OR mevastatin OR pravastatin OR rosuvastatin OR simvastatin OR pitavastatin) associated with each of the following descriptors: “Ulcerative Colitis” OR Inflammatory Bowel Diseases OR Colonic Diseases. For search purposes, these descriptors were combined using the boolean AND between them, according to the example: “Statin” AND “Colitis Ulcerative” as shown in supplementary file 1. The search was conducted until July 28, 2020, restricted to studies written in English, Spanish, and Portuguese, and no date limit was established. In addition, the reference lists of all included articles were evaluated for relevant studies.

2.1 Inclusion Criteria

Only studies evaluating the effects of statin treatment (any statin, dose, duration, frequency, type, and combination) vs. placebo/control in validated animal models (rats, mice) and colitis model (any model of induction, dose, duration, frequency, and route) were eligible for inclusion.

2.2 Exclusion Criteria

Review articles, notes, correspondences, editorials, letters, and articles that the complete text was not sent after 3 previous contacts with the correspondent authors were excluded.

Furthermore, articles were excluded based on the following criteria: (1) animal models with other infectious intestinal diseases and (2) association of new natural compounds with statins.

2.3 Selection of Studies

In the first phase of selection, two independent authors (K.D.V. and B.C.G) searched the databases to identify eligible records, deleted duplicate records, and screened titles and abstracts of selected studies according to the PICOS eligibility criteria using Rayyan QCRI® software [21]. Studies that evaluated the therapeutic effect of statins in experimental models of UC using rodents were selected and then evaluated by full-text review. Any discrepancies were resolved by discussion with a third investigator (S.O.A.F.) [22]. The reference lists and related reviews were also checked to identify potentially eligible studies.

2.4 Assessment of Risk of Bias in the Included Studies

The risk of bias was analyzed using the SYRCLE tool (Systematic Review Centre for Laboratory animal Experimentation), based on Cochrane Collaboration (RoB 2.0), which aims at evaluating the methodological quality of the studies (Hooijmans et al. 2014). The word ‘Yes’ (Y) indicates a low risk of bias, while ‘No’ (N) indicates a high risk of bias in a specific domain. Whenever there was not enough information to evaluate the risk of a particular bias, we used ‘Unclear’ (U).

5. RESULTS

3.1 Study inclusion

The literature search resulted in 1601 records (70 from Pubmed/MEDLINE, 1373 from Scopus, 77 from Web of Science, and 81 from Virtual Health Library) (Figure 1). After excluding duplicated records and reviewing titles, abstracts, and keywords, 91 relevant studies were selected for full-text analysis and further evaluation following the eligibility criteria. From these articles, 67 were excluded based on the criteria described in Figure 1, resulting in 24 studies that met the inclusion criteria. Then, 3 studies were excluded because the full text was unavailable (n = 2) or the study did not evaluate the therapeutic effect of statin (n = 1). Finally, 21 studies were selected for the qualitative analysis are shown in Table 2.

3.2 Quality assessment

The results of our risk of bias assessment of the 21 studies included in this systematic review are shown in Figure 2. Among the studies evaluated, none presented the use of tables or random number generators. In most of the studies, the randomization of the animals during the experiment was not clear, and information about the blinding of caregivers and /or researchers during the intervention was scarce. In 10 studies, the pathologists who interpreted the intestinal histopathology were blinded. All studies reported complete follow-up data. None of the studies presented a low risk of bias in all methodological criteria and achieved the desired quality. Furthermore, most studies provided information on food availability during the experiment, use of standardized diets, management conditions, details of allocation of animals and experimental groups, food consumption, and body weight.

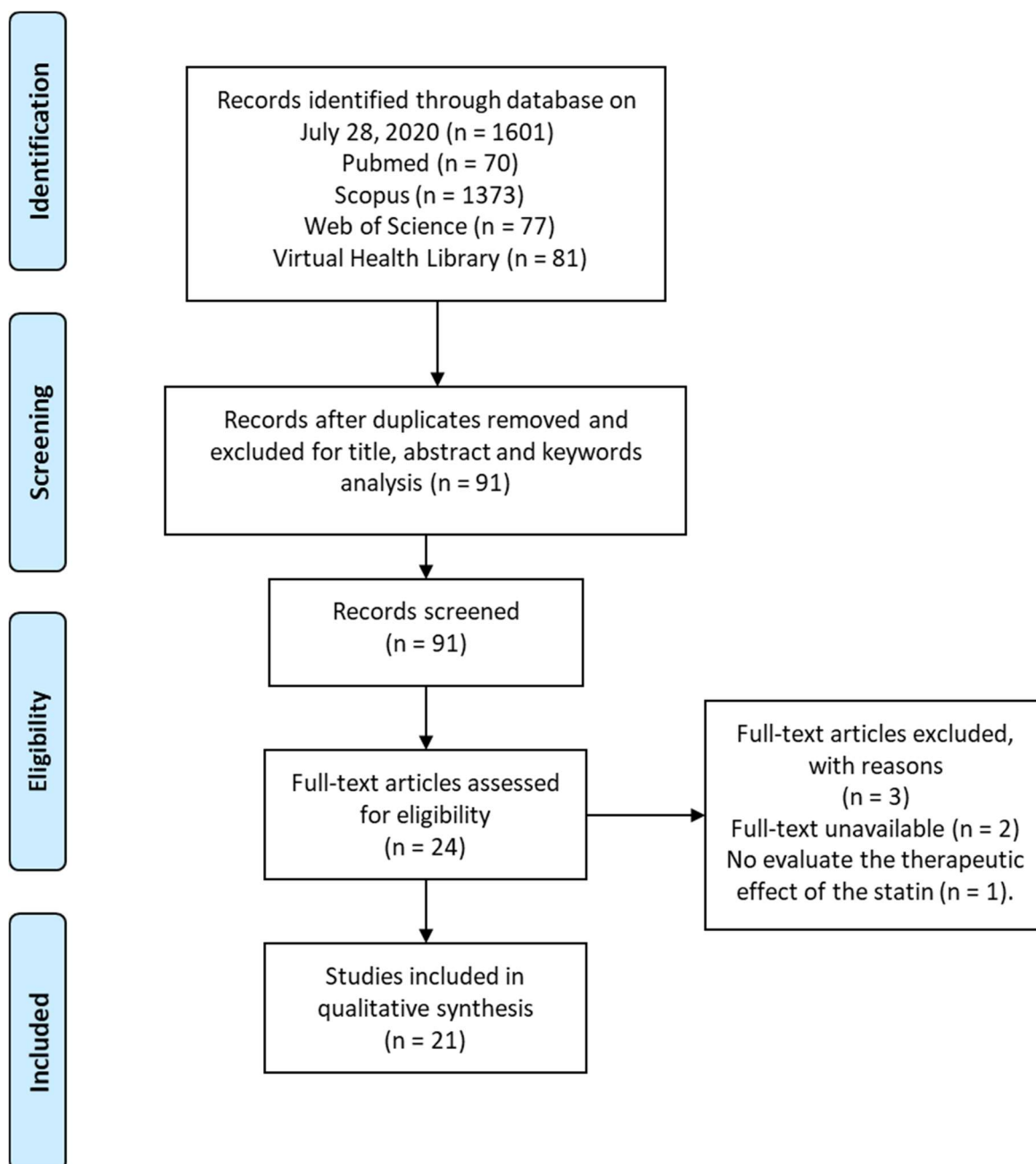


Figure 1: Flow diagram of the search results of our systematic literature review. Based on “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement.” <http://www.prisma-statement.org> From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009).

Table 1: Description of the main characteristics of the experimental model and intervention of the studies regarding the use of statins in studies of colitis animal models.

Reference	Animal	Colitis model	Statin dose and period	Main Outcomes
Sasaki et al., 2003 (Sasaki et al., 2003)	C57BL/6 (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 3% DSS dissolved in water • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Pravastatin 1 mg/kg, diluted in phosphate-buffered saline (PBS) i.p. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss, DAI, permeability • ↓ of colon shortening and histological damage • ↓ MAdCAM-1-positive • ↓ serum cholesterol • maintenance of eNOS
Park et al., 2004 (Park et al., 2004)	C57BL/6 and BALB/c mice	<ul style="list-style-type: none"> • 2.5% DSS dissolved in water • 12 days • TNBS solution epicutaneously on shaved abdomens, and this was followed by the administration of TNBS per rectum 7 days later 	<ul style="list-style-type: none"> • 4% atorvastatin in distilled drinking water • 1 day after DSS administration in 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss and histological damage • ↑ colon length • ↓ of inflammation induced by TNBS-induced colitis.
Naito et al., 2006 (Naito et al., 2006b)	Mice BALB/c (female)	<ul style="list-style-type: none"> • 8.0% DSS (w/v) orally in drinking water ad libitum • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Rosuvastatin (0.03, 0.3, and 3 mg/kg/day) (i.p.) • 7 days. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ decrease in colon length • ↓ histological damage • ↓ MPO, TNF-α and TBA

Suzuki et al., 2006 (Suzuki et al., 2006)	Mice CBA/J (female)	<ul style="list-style-type: none"> • Pretreatment with 8.0 mg/kg azoxymethane (AZM) (i. p.) • Two weeks after the pretreatment, 3% (w/v) DSS in water for 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Diet containing synthetic fluvastatin-Na (100 mg in 1 kg of diet) for 12 weeks. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss • ↑ colon length and weights of the ovaries and uterus • ↓ shrinking of the colorectum and inflammatory cell infiltration • ↓ high-grade dysplasia and • ↓ 8-OHdG- and Thymidylate synthase and thymidine kinase
Jahovic et al., 2006 (Jahovic et al., 2006)	Sprague-Dawley rats (either sex)	<ul style="list-style-type: none"> • 30 mg/ml TNBS solution dissolved in 40% ethanol in saline (i.r.). 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (0.1 and 1 mg/kg day) (i.p.) • Fluvastatin (0.1 and 1 mg/kg day) (i.p.) • 3 days, beginning 5 min after induction of colitis. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ macroscopic lesion score • ↓ MDA, MPO and TNF-α • ↑ GSH • ↓ Collagen and lucigenin CL
Lee et al., 2007 (J. Y. Lee et al., 2007)	Male C57BL/6 mice (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 4% DSS dissolved in water • 6 days 	<ul style="list-style-type: none"> • 0.5% Simvastatin was suspended in methylcellulose solution (o. g.) 5 mg/kg/d and 50 mg/kg/d • 8 days beginning on 2 days before DSS exposure. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss and DAI • ↑ colon length • ↓ mRNA de IL-8, TNF-α and NF-κB • ↓ histological injury

Ikeda et al., 2008 (Ikeda et al., 2008)	SJL/J male mice (n/s)	<ul style="list-style-type: none"> • Presensitize TNBS (2.5% in 50% ethanol) or oxazolone (3% in 100% ethanol) • 5 days after presensitization, 1.5% TNBS or 1% oxazolone dissolved in 0.9% NaCl was applied (i.r.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Prophylactic protocol (10 or 40 mg/kg i.p.) simvastatin daily from 5 days before to 7 days after rectal administration of TNBS or OXA • Therapeutic protocol (10 or 40 mg/kg i.p.) simvastatin daily for a total 7 days after rectal administration of TNBS or OXA. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss (Prophylactic protocol) • Preventing colon length reduction • ↓ histological damage • ↓ IFN-γ, TNF-α e IL - 17
Kanagarajan et al., 2008 (Kanagarajan et al., 2008)	Swiss Webster (female)	<ul style="list-style-type: none"> • 4 % DSS (oral intake) • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (20 mg/kg/day) suspended in vehicle (0.75 % methyl-cellulose, 0.1 ml p. o.) • Atorvastatin (60 mg/kg/day, 0.1 ml p. o.) in vehicle. • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ DAI and stool consistency scores • ↑ colon lengths • the results were comparable to those observed with anti-TNF monoclonal antibody.
Cho et al., 2008 (S. J. Cho et al., 2008)	C57/BL6 mice	<ul style="list-style-type: none"> • 12 mg/kg azoxymethane (AOM) (i.p.) • 2% DSS drinking water over 5 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (50 mg/kg) (o.g.) • Starting on day 8 of protocol for 20 days. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ caspase-3 activity in HCT 116 cells • ↓ bcl-2, bcl-xL e NF-κB cIAP1, cFLIP-S e VEGF • ↓ tumor growth in the xenograft mouse model • ↑ tumor cell apoptosis

Aktunc et al., 2011 (Aktunc et al., 2011b)	Mice BALB/c (n/s)	<ul style="list-style-type: none"> • 5% TNBS (i.r.) in 150 μL of solution of 95% ethanol (i.r.) 	<ul style="list-style-type: none"> • 5mg/kg atorvastatin (i.p.) • 5 days (after rectal administration of TNBS). 	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow histological damage • \uparrow colon length • \downarrow Th1, and Th17 cytokines (IL-17, IL-23, IL-1α, TNF-α, IL-6 and IFN-γ) • \uparrow IL-10
Abe et al., 2012 (Abe et al., 2012a)	Mice SJL/J (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 0.5 mg TNBS dissolved in 50% ethanol (i.r.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (5 and 25 mg/kg, o.p.) • 4,8 and 12 days (after rectal administration of TNBS). 	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow body weight loss and DAI • \downarrow histological damage • \uparrow regeneration-converging • \downarrow TNF-α and TGF-β1 inflammation period • anti-fibrotic effect
Oishi et al., 2014 (Oishi et al., 2014a)	Wistar rats (male)	<ul style="list-style-type: none"> • Acute phase 5 % DSS (dissolving in distilled water) for 5 days • Chronic phase which was followed by 2 % DSS for 10 days (days 6–15;) 	<ul style="list-style-type: none"> • Fluvastatin (20 mg/kg) dissolved in saline (o.g.) • 5 days. 	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow DAI • \downarrow mRNA of TNF-α, iNOS and CINC-1 in rectum
Maheshwari et al., 2015 (Maheshwari et al., 2015)	Wistar rats (female)	<ul style="list-style-type: none"> • TNBS (120 mg/kg) dissolved in ethanol (50%, v/v) intrarectally (i.r.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (10 mg/kg, p.o.) or rosuvastatin (10 mg/kg, p.o.) • 5 days before to 7 days after rectal administration of TNBS. 	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow DAI • \uparrow colon length • \uparrow SOD and GSH • \downarrow MDA • \downarrow TNF-α and MPO

				<ul style="list-style-type: none"> • ↓ necrosis and inflammation of the epithelial cell
Elkatary et al., 2015 (Elkatary et al., 2015)	C57BL/6 mice (female)	<ul style="list-style-type: none"> • 2.5% DSS dissolved in water • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (5 and 50 mg/kg/d) (o.g.) • 8 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ DAI and histological damage • ↑ colon length • ↓ TNF-α, MDA and NO • ↑ GSH
Lei et al., 2016 (Lei et al., 2016)	C57BL/6 and BALB/c mice (n/s)	<ul style="list-style-type: none"> • Acute colitis: 2,5% DSS dissolved in drinking water for 7 days • Chronic colitis: 2% DSS for 7 days followed by 14 days of drinking water (cycle was repeated three times). 	<ul style="list-style-type: none"> • Acute colitis the Atorvastatin (50 mg/kg/day) or vehicle (i.p.) for 3 days • Chronic colitis Atorvastatin or vehicle was injected intraperitoneally for 3 days before each DSS administration and lasted for 12 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Myeloid-derived suppressor cells • ↓ inhibited T-cell responses by nitric oxide production • ↓ body weight loss and histological damage • ↑ colon length • ↑ iNOS, TNF-α and IL - 17
Rashidian et al., 2016 (Rashidian et al., 2016a)	Wistar rats (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 100 mg/kg TNBS dissolved in 0.25 ml of 50 % ethanol (i.r.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Atorvastatin 20 and 40 (mg/kg) (o.g.) • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss • ↓ macroscopic lesion and ulcer index • ↓ histological damage • ↓ TNF-α e MPO

				<ul style="list-style-type: none"> • ↓ expression of TLR4, MyD88 and NF-κB p65
Shin et al., 2017 (J. H. Cho et al., 2017)	Mice C57BL/6 (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 5% DSS (orally in drinking water) • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Rosuvastatin (0.3 mg/kg per day) • 21 day (p.o.) (before 7 d and after 7 d of DSS administration) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss and DAI • ↓ IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-12 e IL-17 • ↓ histological damage • ↓ 8-OHdG e NOX1 • ↓ IL-1β, IL-8 e COX-2 cell IEC-6 • ↓ caspase-3, caspase-7, and PARP.
Soliman et al., 2019 (N. A. Soliman et al., 2019)	Wister albino rats (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 2 ml of 3% (v/v) acetic acid in 0.9% NaCl intrarectally • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • Simvastatin (10 and 20 mg/kg) (o.g.) • 5 days before to 7 days after rectal administration of AA 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ body weight loss and DAI • ↓ histological damage and Microscopic/Macroscopic score • ↓ ulcer area • ↓ GSH and MDA • ↑ SOD • ↓ TNF-α and IL 1B • ↑ goblet cells

				<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Colonic caspase-1 and Colonic COX2
Manna et al., 2019 (Manna et al., 2018)	Albino rats (male)	<ul style="list-style-type: none"> • 4% acetic acid (i.r) 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 mg/kg of atorvastatin (o.g.) • 7 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ colonic damage and DAI • ↓ histological damage and Microscopic/Macroscopic score • ↓ ICAM-1, CD26, TNF-α, IL-6; MDA, MPO
El-Mahdy et al., 2020 (El-Mahdy et al., 2020)	Albino rats (male)	<ul style="list-style-type: none"> • Topical application 5% oxazolone (w/v) in absolute alcohol to induce an allergic reaction • 5% oxazolone in 50% ethanol solution on 5 and 7 day (i.r.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Atorvastatin (20 mg/kg/day; dissolved in saline - g.o.) for 21 days • Combination of mesalazine and atorvastatin (20 mg/kg/day; dissolved in saline g.o.) for 21 days 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ colon length and weights of body • ↓ colon wet mass index • ↑ IL - 10, ZO-1 • ↓ Diarrhea and rectal bleeding • ↓ IL - 6, TNF -α, IL-13 and STAT-3 • ↓ caspase 3 gene and MPO • ↑ GSH • ↓ histological damage

Zhang et al., 2020 (X. Zhang et al., 2020)	BALB/c mice (male)	<ul style="list-style-type: none">• 4% DSS intragastrically (i.g.)• 10 days	<ul style="list-style-type: none">• Dehydrolovastatin (DLVT), a derivative lovastatin• DLVT high dose treated group (33.6 mg/kg/d), DLVT low dose treated group (16.8 mg/kg/d) for 10 days (i.g.)	<ul style="list-style-type: none">• ↓ body weight loss and DAI• ↑ colon length• ↓ histological damage• ↓ MPO, TNF-α, IL-6, IL-17 and NF-κB• ↑ IL-10
---	-----------------------	--	--	---

3.3 Experimental models

Most of the studies included in this review used DSS to induce UC as a single agent (9/21; 42%) or associated with another drug, such as azoxymethane (AZM) (1/21; 4,7%) and azoxymethane (AOM) (1/21; 4,7%). The TNBS was used as a single agent (5/21; 23%) or associated with oxazolone or DSS (2/21; 9,5%). Two studies used acetic acid (2/21; 9,5%) and oxazolone alone (1/21; 4,7%) as UC-induced agents. Regarding the routes of administration, oral (11/21; 52%) and intrarectal (10/21; 47,6 %) were used in most of the studies. Only 2 studies used different administration pathways, i.e., the association of intraperitoneal and oral (1/21; 4,7%) and topical and intrarectal (1/21; 4,7%). Regarding the protocols, the studies used single (6/21; 28%) or multiple doses (15/21; 71%) of acute UC (18/21; 85%) with the duration of treatment varying from 1 to 10 days and chronic UC studies (3/21; 14%). Most studies used mice to evaluate the therapeutic effect of statins. The main lineages employed were C57BL/6 (4/21; 19%), BALB/c (3/21; 14%), C57BL/6 and BALB/c (2/21; 9,5%), SJL/J (2/21; 9,5%), Swiss (1/21; 4,7%), and CBA/J (1/21; 4,7%). The rat lineages used were Wistar (3/21; 14%), Sprague-Dawley (1/21; 4,7%), and Albino rats (3/21; 14%), in which most animals were males.

	1: Random allocation sequence	2: Similar animals	3: Allocation	4: Random housing	5: Blinding of investigators	6: Random animal selection for outcome assessment	7: Blinding of outcome assessor	8: Incomplete data addressed	9: Free of selective reporting	10: Free of other bias
Sasaki et al., 2003	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Park et al., 2004	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Naito et al., 2006	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Suzuki et al., 2006	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Jahovic et al., 2006	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Lee et al., 2007	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Ikeda et al., 2008	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Kanagarajan et al., 2008	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Cho et al., 2008	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Aktunc et al., 2011	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Abe et al., 2012	-	+	?	?	+	-	+	+	+	+
Oishi et al., 2014	?	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Maheshwari et al., 2015	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Elkatary et al., 2015	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Lei et al., 2016	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Rashidian et al., 2016	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
Shin et al., 2017	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Soliman et al., 2019	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Manna et al., 2019	-	+	?	?	?	-	+	+	+	+
El-Mahdy et al., 2020	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+
Zhang et al., 2020	-	+	?	?	?	-	?	+	+	+

Figure 2: Evaluation of the animal studies using the SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. Summary shows studies' quality assessment at an individual level. (+) Low risk of bias. (-) High risk of bias. (?) Unclear risk of bias.

3.4 Statins

Several types of statins were studied, the most used were Simvastatin (10/21; 47%), Atorvastatin (7/21; 33%), Fluvastatin (2/21; 9,5%), and Rosuvastatin (3/21; 14%). Furthermore, one study (1/21; 4,7%) used Dehydrolovastatin (DLVT), a derivative of lovastatin. Three studies evaluated more than one statin [23–25]. The majority of the studies used statins as a single agent (20/21; 95%), and only one study combined mesalazine and atorvastatin (1/21; 4,7%) [26]. Among the routes of administration of statins, the oral route was the most commonly used (15/21; 71%), followed by intraperitoneal (5/21; 23%), and one study used a diet containing synthetic fluvastatin-Na (1/21; 4,7%). The concentrations given to each animal varied between 0,3 to 60 mg/kg/day. The period of administration varied between 3 days to 12 weeks, with the most frequent period being 7 days (6/21; 28%).

3.5 Body weight loss and DAI and maintenance of the intestinal barrier

The weight loss and increased Disease Activity Index (DAI) was included in 11/21 studies (52%), the reduction in the length of the colon was evaluated in 71% of the studies (15/21). The histological evaluation, analyzed in 80% of the studies (17/21), only 1 study [23] did not detect a reduction in inflammation and tissue recovery with the use of statins. The intestinal barrier integrity can also be evaluated by the complex expression of tight junctions (TJ). Among the studies analyzed, only 4,7% (1/21) evaluated ZO-1 expression, showing reduced expression levels in the disease.

3.6 Inflammatory response

The expression of cytokines was analyzed in 71% of the studies (15/21). Among the cytokines, most studies evaluated only molecules with pro-inflammatory profiles, such as TNF- α , IL-6, IL-5, IL-12, IL-13 IFN- γ , IL-1 β , and IL-17. The most evaluated cytokine was TNF- α (15/21; 71%). The anti-inflammatory cytokine IL-10 was evaluated in only 2 studies [27,28]. Another inflammatory component evaluated in 33% of the studies (7/21) was the myeloperoxidase (MPO) enzyme, an indirect indication of neutrophil infiltrate in the tissue.

Elements of inflammatory pathways were also investigated to elucidate the anti-inflammatory role of statins. For instance, Nuclear factor-kappa B (NF- κ B) was evaluated in 14% (3/21). The pro-inflammatory enzyme COX-2 was investigated in 9,5% of the

included studies (2/21). In synergy with COX-2, the nitric oxide synthase (iNOS) was evaluated in 9,5% (2/21) of the studies. In addition, one study (1/21) evaluated the expression of signal transducer and transcription activator - 3 (STAT-3).

3.7 Anti-apoptotic and pro-proliferative activities

Proteins involved in apoptosis and inflammation, such as many caspases, were evaluated in 19% (4/21) of the studies. Another element involved in the activation of apoptosis pathways is the enzyme poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) was analyzed only one study (1/21; 4,7%).

3.8 Oxidative stress

Oxidative stress can be detected using several markers, including GSH, which is the main eliminator of non-enzymatic free radicals, exerting an antioxidant effect on the gastrointestinal mucosa. GSH was evaluated in 19% of the studies (4/21). Malondialdehyde (MDA), a marker of lipid peroxidation, was analyzed in 23% (5/21) of the studies and all reported a reduction of this marker. Using a second lipid peroxidation marker, one study (1/21; 4,7%) was performed using the thiobarbituric acid test (TBA). The 8-hydroxy-2oxy-deoxyguanosine (8 - OHdG), an indirect marker of oxidative stress in DNA, was evaluated in 9,5% (2/21) of the studies, SOD an antioxidant enzyme, was analyzed in 9,5% (2/21) of the studies. In contrast, another study did not observe alteration of this enzyme with treatment with statins. Finally, only one (1/21; 4,7%) study evaluated the activity of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH oxidase, NOX), an enzyme family that catalyzes the production of ROS. This study showed that NOX levels were suppressed by the treatment with statins.

3.9 Mucus production and collagen

In 4,7% (1/21) of the included studies, goblet cells were evaluated. It was demonstrated that the treatment with simvastatin increased the number, size, and color intensity of these cells. The increase in goblet cells was simultaneously associated with intestinal epithelial restoration and crypt regeneration [29].

Among the studies analyzed, 9,5% (2/21) evaluated the anti-fibrotic activity of statins, in which [23] observed the reduction of the content of tissue collagen by simvastatin and fluvastatin. Furthermore, [30] also observed the anti-fibrotic effect of simvastatin in mice with UC.

6. DISCUSSION

Inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase (e.g., statins) constitute the most potent class of lipid-lowering drugs currently available. The advent of these drugs has revolutionized the treatment of hypercholesterolemia due to their ability to reduce HDL and their excellent tolerability safety and their “pleiotropic effects” [31,32]. In addition to cholesterol, L-mevalonate is also the precursor of several isoprenoid metabolites. HMG-CoA reductase blockade inhibits the biosynthesis of L-mevalonate, also inhibiting the production of intermediates, such as geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) and farnesyl pyrophosphate (FPP), that are involved in cellular processes, including cell signaling, cell differentiation and proliferation, myelination, cytoskeleton dynamics and endocytotic/exocytotic transport [33,34]. These intermediates form important lipid bonds for post-translational modification of a variety of proteins, in particular small guanosine triphosphate (GTP) -binding proteins, such as Rho, Rab, Rac, Ral, and Rap. These GTPases are the main substrates for post-translational modification and perform specific functions, including shape, motility, secretion, signaling, and cell proliferation [35]. Thus, statins, through the inhibition of HMG-CoA reductase, can affect several processes, generating pharmacological properties not related to lipids, such as anti-inflammatory and immunomodulatory activities (C. Y. Wang, Liu, and Liao 2008).

6.1 Molecular mechanisms of the anti-inflammatory effects of statins

UC is characterized by continuous inflammatory lesions in the intestinal mucosa of the distal and rectal colon [37]. Among the studies included in the present review, it was observed that, in the case of UC, there is an overall increase in the inflammatory profile, mainly due to Th2 cytokines. However, statins were able to reduce the expression of these cytokines and Th-17, which have been involved in the pathogenesis of UC [38]. Scientific evidence shows that such activity of statins is related to the inhibition of isoprenoids, such as GGPP and FPP, which regulate Th1 differentiation and T cell proliferation [39,40].

Several other pathogenic factors have been identified to contribute to the development or spread of inflammation in UC. Two canonical signaling pathways were involved in this process, such as the nuclear factor κ B (NF- κ B), Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) pathway, and Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT) pathway [41]. The activation of NF- κ B and MAPK occurs via toll-like 4

receptors (TLR-4) that stimulate the release of TNF- α , IL-6 and IL-12 by macrophages, exacerbating the inflammatory response. The activation of the JAK/STAT pathway occurs through cytokine signaling, which promote the production of several interleukins [42].

The studies included in this review analyzed the effects of statins on NF- κ B and observed its reduction in animals with UC that received simvastatin and atorvastatin [8,43]. Cho and collaborators [44] also observed an inhibition in the expression of the NF- κ B dependent anti-apoptotic gene in colon cancer cells by statins. Numerous hypotheses have been raised for the activity of statins on NF- κ B. The first is the role of these compounds in decreasing the activity of TLRs [45], mainly TLR4, which recognizes several molecular patterns associated with pathogens (PAMPs) and damage-associated molecular patterns (DAMPs). The activation of NF- κ B by TLR4 happens mainly through pathways dependent on the myeloid differentiation factor 88 (MyD88) by interaction with members of the receptor-associated kinase family (IRAK) [46]. TLR4 inhibition by statins occurs due to their effect on lipid rafts, which are sphingolipids and cholesterol-rich domains on the cell surface that provide platforms for signaling and membrane traffic, in addition to playing a key role in the organization of TLR4 signaling and various other immune receptor systems [47]. Inhibition of mevalonate by statins results in the grouping of TLR4 within the lipid raft, reducing the NF- κ B activation activity [48,49]. Other studies indicate that the mechanism of inhibition of NF- κ B by statins occurs due to the reduction of phosphorylation of I κ B α and its binding to target DNA [50,51]. Moreover, evidence points out that statins would also hinder the translocation of NF- κ B to the nucleus, keeping it in an inactive cytosolic form.

Elements that participate in the activation of NF- κ B, such as MyD88, are also affected by statins. Rashidian and colleagues [8] evaluated the activity of atorvastatin in an UC model induced by TNBS. They observed a significant reduction in the expression of TLR4, MyD88 and NF- κ B p65 in the colon tissue with UC after treatment with atorvastatin, indicating its potential anti-inflammatory effect by inhibiting the NF- κ B signaling pathway linked to TLR4. Scientific evidence indicates the effect of statins on the suppression of TLR4/MyD88 signaling molecules, leading to the inactivation of NF- κ B and MAPKs and the inhibition of pro-inflammatory cytokines in UC models [52]. Another noteworthy aspect discussed by Soliman (2019) is the inhibition of the expression of the NLRP3 inflammasome by statins. O NLRP3 belongs to the nucleotide-

binding-oligomerization-domain (NOD) like receptor (NLR) family and functions as an intracellular pathogen recognition receptor (PRR) which recognizes PAMPs and DAMP and is associated with various inflammatory diseases, including IBDs [53]. NLRP3 inflammasome and pro-caspase-1 are linked to the modulation of the cytokines IL-1 β and IL-18 [54,55]. The studies analyzed [26,56] showed that caspase-3 and 7 were increased in animals with UC. They also demonstrated the presence of caspase 1 [29], which was increased in the UC model by acetic acid. In all studies, the authors found that statins significantly reduced caspases 1, 3, and 7. Statins are believed to have a strong effect on inhibiting of NLRP3 and caspases, however, as far as we know, the mechanisms by which statins act are still unclear [57].

6.2 Effect of statins on signal transducing and transcription activating proteins (STAT)

Signal transducers and activators of transcription (STAT) proteins are a family of latent transcription factors produced in many types of cells. They become activated by tyrosine phosphorylation and dimerization in response to a variety of extracellular cytokines [58]. The activation of these elements was correlated with the increased risk of developing IBD [59,60]. Studies indicate that statins play a crucial role in signaling cascade via the Janus kinase (JAK) and STAT pathways [61]. The modulation of STAT plays a role in the regulation of cytokine-dependent inflammation and immunity [62]. Scientific evidence demonstrates that patients with active UC present increased STAT6 and STAT4 signaling, which has been associated with chronic inflammation in UC [63,64]. Studies have also reported high expression of STAT-3 in IBD, especially in more severe UC [65], which was also observed by [26] in an animal model with oxazolone-induced UC, in which they observed a reduction of IL-6 / STAT3 signaling by atorvastatin. IL-6 / STAT3 has a regulatory role in the survival and proliferation of intestinal epithelial cells, playing an important activity in the pathogenesis of IBD and colorectal cancer. El-Mahdy and collaborators [26] associated atorvastatin with mezalazine and observed a synergistic effect for this combination in inhibiting IL-6 / STAT-3 signaling.

6.3 Statins reduce MPO and COX

The presence of neutrophils and monocytes is an indicator of IBD. They are quickly mobilized to the infection sites and exert their defenses against microorganisms through phagocytosis and the release of soluble and protein antimicrobial compounds [66].

Usually, high levels of MPO are found in IBD, and among the studies analyzed, all detected an increase in the levels of this enzyme in animals with UC [23,25,26,67–69]. Statins have been reported to reduce mRNA levels of the MPO gene by 20 to 200-fold in monocyte-macrophage and bone marrow precursors [70]. Statins block MPO expression by inhibiting the production of isoprenoid intermediates, including GPP, in the HMG-CoA pathway. Studies show that geranyl geranylated proteins play a crucial role in the expression of the MPO gene, thus suppressing the production of MPO at inflammation sites [71,72].

In IBD and experimental UC, increased COX-2 mRNA and protein amounts were found in inflamed areas of the colon [73]. Among the studies examined, Shin and colleagues [56] and Soliman and collaborators [29] observed a reduction in COX-2 expression by the treatment with statins in animals with UC induced by DSS and acetic acid, respectively. Regarding the molecular mechanisms by which statins negatively regulate the expression of COX-2, studies show that this regulation is variable and dependent on the cell lines. For instance, RhoA is responsible for blocking the expression of COX-2 in muscle cells vascular smooth, while Rac 2 is essential for the expression of COX-2 in U937 monocytic cells, resulting in a different and opposite expression of COX-2 in response to statins [74]. Thus, it is believed that the negative modulation of COX-2 expression is associated with the modulation of the COX-2 promoter that involves the Ras and Rho proteins, which are potential targets for statins [75]. In addition, studies demonstrate that the blocking of COX-2 by statins in monocytes can also occur in a Rac-dependent manner [76] and Massaro et al (2010) observed that Rho has an essential role in the endothelial induction of COX-2 [77].

6.4 Statins modulate proteins of tight junction, increase the production of Mucin, and reduce Fibrosis

The TJ complex is a group of proteins that form a physiologically active barrier in intestinal epithelial cells. TJ protein expression is known to be decreased in intestinal inflammation [78]. El-Mahdy and colleagues [26] and Sasaki and collaborators [79] studied the TJ complex and intestinal permeability, respectively. They observed that the animal models of UC promote the reduction of ZO-1 expression and increased colonic permeability. Furthermore, the treatment with atorvastatin and pravastatin reduced the colon permeability and increased the expression of ZO-1. Among the main relationships

between these events, the effect of statins on Rho-kinase (ROCK) stands out. They regulate various aspects of the cellular form, such as motility, proliferation and apoptosis, and mediate changes in the actin cytoskeleton induced by effects on myosin light chain phosphorylation [36,80]. This phosphorylation of the regulatory light chain of the myosin motor protein increases the contractility of the actomyosin stress fibers that anchor the TJ complexes in the apical region of epithelial cells [81]. Statins directly inhibit RhoA/ROCK signaling. The inhibition of myosin light chain phosphorylation, which mitigates barrier dysfunction and the rearrangement of TJs in the intestinal epithelium, also occurs [82].

Goblet cells produce a layer of viscous mucus that covers the intestinal epithelium. It is known that goblet cells decrease in number or are depleted in the inflamed mucosa of UC animal models and patients with IBD [83]. This effect was presented by Soliman and colleagues [29]. The authors correlate an increase in goblet cells with intestinal epithelial restoration and regeneration of the crypts after the use of simvastatin.

Patients with UC have intestinal fibrosis as a complication, which is presented as an excessive accumulation of fibrotic tissue in inflamed areas of the small intestine and colon [84]. In this case, multiple soluble mediators, such as cytokines (e.g., IL-13, IL-17 or IL-10) and growth factors (e.g., transforming growth factor (TGF)), are increased in the active UC and can act in a profibrotic way. Abe et al. [30] evaluated the activity of simvastatin in a UC model induced by TNBS and observed ample antifibrotic activity of this statin. The authors noted that the antifibrotic action was present at an earlier stage of UC due to the inhibition of the TGF- β system and induction of fibroblast and myofibroblast apoptosis. These findings corroborate studies that point to reduced fibrosis and collagen deposition in animal models of hypertension with left ventricular hypertrophy. Among the possible molecular mechanisms involved in this effect, Rupérez and collaborators [85] demonstrated that the inhibition of Rho activation regulates the release of tissue growth factor induced by TGF- β in fibroblasts, indicating that the antifibrotic effect of statins can be attributed to the negative regulation of profibrotic factors. Other studies [86,87] also demonstrate that pravastatin and pitavastatin reduced mRNA expressions not only for TGF- β but also for collagen I and III and matrix metalloproteinases (MMPs).

6.5 *Statins reduce oxidative stress*

Oxidative stress is an imbalance between the production of reactive oxygen or nitrogen species (ROS and RNS, respectively) and the effect of endogenous enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems [88]. Oxidative stress is a potential driving force in the induction and progression of UC. Studies report that statins can reduce oxidative stress by several pathways, including direct elimination of radicals, effect on inflammatory cells, vascular, activity on NOS, stimulation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR), activity on endogenous antioxidants, inhibition of hepatic cytochrome P450, and reduced oxLDL uptake by scavenger receptors [88]. Scientific evidence demonstrates that statins inhibit NAD[P]H oxidase, which is an important member of oxidative processes, known as the superoxide-producing enzyme [89]. Inhibition of this enzyme occurs due to the inhibition of Rac1 prenylation. Activation and translocation of Rac1 in the cytosolic compartment to the cell membrane is a prerequisite for the activation of NAD (P) H oxidase [90]. Statins decrease Rac1 geranylgeranylation-dependent translocation from the cytosol to the membrane, which, in turn, can inhibit the activation of NADPH-oxidase [89,91].

Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) and catalase are important antioxidant enzymes. The expression of these enzymes in patients with active UC is usually considerably disturbed. Such findings were widely observed among the experimental models of UC analyzed (Soliman et al., 2019, Maheshwari et al., 2015; Jahovic et al., 2006; El-Mahdy et al., 2020). Statins are believed to act at the genetic level, as demonstrated by Hosseinzadeh and colleagues [92], observed the positive regulation of mRNA expression of antioxidant enzymes, including GPx, CAT, SOD, among others, by using atorvastatin in a model of diabetes. Therefore, such enzymatic regulation leads to a considerable decrease in the general intracellular level of free radical charge.

In addition, statins have been highlighted in reducing lipid peroxidation. This effect was also observed in the studies analyzed [23–25,29,67,69,93], which described the reduction in Malondialdehyde (MDA) and 2-thiobarbituric acid (TBA) In experimental UC, MDA is generally increased Oxygen radicals produce membrane peroxidation and MDA formation, which are detrimental to cell function [94–96]. However, statins have stood out in reducing MDA [92,97].

ROS causes extensive DNA damage, including single-strand breaks, producing several base modifications with pro-mutagenic potential. One of the most abundant forms of oxidized DNA is 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG), which is formed by the reaction of the hydroxyl radical at the position C-8 of the deoxyguanosine DNA base [98]. Clinical studies demonstrate that increased levels of 8-OHdG are found in patients with UC [99], which can induce mutations in proto-oncogenes and tumor suppressor genes and, thus, promote the development of colon cancer. For this reason, increased levels of 8-OHdG have been associated with carcinogenesis [100]. Among the studies evaluated, Shin et al., 2017 and Suzuki et al., 2006 [56,101] indicated an increase in 8-OHdG in UC models and observed a reduction in 8-OHdG due to the use of rosuvastatin and fluvastatin, respectively, which in fact, it is also seen in clinical studies [102]. Regarding the mechanisms involved in the reduction of 8-OHdG, it is believed that the general antioxidant effect of statins, both in the direct elimination of ROS and NOS and in the increase of antioxidant enzymes, spared the DNA from oxidative stress, reducing the levels of 8-OHdG [103].

6.6 Statins improve histology and clinical parameters in UC

The main characteristics of UC include diffuse inflammation of the mucosa that extends proximally from the rectum to a variable degree, resulting from a complex association of inflammatory mediators, promoting extensive superficial mucosal ulceration. Potential of statins in the control of UC shows that these drugs promote a significant reduction in necrosis and inflammation of epithelial cells in experimental models of UC [8,26–30,43,56,67,79,93,104–106]. The dynamics of UC, is broad and multifaceted, and the reduction of inflammation and oxidative stress significantly contributes to the improvement of histological and cellular parameters. Furthermore, it improves the indicators of clinical scores and DAI scores. The DAI score, which is an indicator of the severity of intestinal inflammation, is usually significantly increased in UC. Among the studies evaluated, the DAI scores were significantly lower in the groups treated with statins than in the UC groups. The increase in colon length was also extensively observed [24–28,43,79,101,104,107].

7. CONCLUSION

Statins have been considered a treatment for several inflammatory diseases. Numerous in vivo studies conducted with different animal models for immune-mediated diseases

provide evidence of a beneficial effect of statins in the management of immune disorders. The use of statins in UC results in a late onset of the disease and mitigates clinical signs. The literature presents numerous evidence in the murine models of the activity of statins in the modulation of inflammation. It has been observed that research aimed to elucidate the activity of statins in UC has advanced considerably in recent years, with numerous preclinical studies being carried out. However, there are still important gaps regarding the molecular mechanisms of action of statins. Given the countless benefits of using statins in UC, it is necessary to conduct further studies on humans since the available data still present contradictory points and are inconclusive. Clinical trials with a significant number of patients, multicentric, double-blind, and placebo-controlled, are desirable to determine the effects of statins on disease activity. The effect of applying statins on UC should be assessed not only in establishing remission but also in maintaining remission of the disease. Moreover, molecular and genomic analyzes must be conducted to prove the roles of statins in UC.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was financed in part by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Simone Odília Antunes Fernandes is supported by a grant from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Minas Gerais Network for Translational Research in Immunobiologicals and Biopharmaceuticals in Cancer - REMITRIBIC, RED-00031-21). K.D.V. and B.G.C is grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) for a Ph.D. fellowship. We would like to thank William Gustavo de Lima for the review ad-hoc.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

ETHICS STATEMENT

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

REFERENCES

1. Yu, Y.R., and Rodriguez, J.R. (2017) Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes. *Semin Pediatr Surg*, 26 (6), 349–355.
2. Kaser, A., Zeissig, S., and Blumberg, R.S. (2010) Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol*, 28, 573–621.
3. Guan, Q. (2019) A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Immunol Res*, 2019.
4. Langner, C., Aust, D., Ensari, A., Villanacci, V., Becheanu, G., Miehke, S., Geboes, K., and Münch, A. (2015) Histology of microscopic colitis-review with a practical approach for pathologists. *Histopathology*, 66 (5), 613–626.
5. Berends, S.E., Strik, A.S., Löwenberg, M., D'Haens, G.R., and Mathôt, R.A.A. (2019) Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations in the Treatment of Ulcerative Colitis. *Clin Pharmacokinet*, 58 (1), 15–37.
6. Gao, Y., Wang, Y., Wu, N.Q., Zhu, C.G., Guo, Y.L., Qing, P., Liu, G., Dong, Q., and Li, J.J. (2017) Statins use and the risk of liver dysfunction: A Chinese cohort study in real world clinical practice. *IJC Metab Endocr*, 16, 16–20.
7. Abeles, A.M., and Pillinger, M.H. (2006) Statins as antiinflammatory and immunomodulatory agents: A future in rheumatologic therapy? *Arthritis Rheum*, 54 (2), 393–407.
8. Rashidian, A., Muhammadnejad, A., Dehpour, A.R., Mehr, S.E., Akhavan, M.M., Shirkoohi, R., Chamanara, M., Mousavi, S.E., and Rezayat, S.M. (2016) Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF-kB signaling pathway. *Inflammopharmacology*, 24 (2–3), 109–118.
9. Svvs, R., Trivedi, P.P., Kushwaha, S., Vikram, A., and Jena, G.B. (2013) Protective role of atorvastatin against doxorubicin-induced cardiotoxicity and testicular toxicity in mice. *J Physiol Biochem*, 69 (3), 513–525.
10. Kwak, B., Mulhaupt, F., Myit, S., and Mach, F. (2000) Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med*, 6 (12), 1399–1402.
11. Ungaro, R., Chang, H.L., Cote-Daigneaut, J., Mehandru, S., Atreja, A., and Colombel, J.-F. (2016) Statins Associated With Decreased Risk of New Onset Inflammatory Bowel Disease. *American Journal of Gastroenterology*, 111 (10), 1416–1423.
12. Dhamija, P., Hota, D., Kochhar, R., Sachdev, A., and Chakrabarti, A. (2014) Randomized clinical trial: Atorvastatin versus placebo in patients with acute exacerbation

of mild to moderate ulcerative colitis. *Indian Journal of Gastroenterology*, 33 (2), 151–156.

13. Crockett, S.D., Hansen, R.A., Stürmer, T., Schectman, R., Darter, J., Sandler, R.S., and Kappelman, M.D. (2012) Statins are associated with reduced use of steroids in inflammatory bowel disease: A retrospective cohort study. *Inflamm Bowel Dis*, 18 (6), 1048–1056.

14. Lochhead, P., Khalili, H., Sachs, M.C., Chan, A.T., Olén, O., and Ludvigsson, J.F. (2020) Association between statin use and inflammatory bowel diseases: Results from a Swedish, nationwide, population-based case-control study. *J Crohns Colitis*.

15. Côté-Daigneault, J., Mehandru, S., Ungaro, R., Atreja, A., and Colombel, J.-F. (2016) Potential Immunomodulatory Effects of Statins in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*, 22 (3), 724–732.

16. Peppas, S., Piovani, D., Peyrin-Biroulet, L., Danese, S., and Bonovas, S. (2020) Statins and inflammatory bowel disease: Where do we stand? *Eur J Intern Med*, 75, 10–14.

17. Mukhopadhyaya, A., Gilmour, H., and Plevris, J. (2008) Pravastatin-induced colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 20 (8), 810–812.

18. Khalili, H. (2016) Editorial: Statins for Inflammatory Bowel Disease: Expanding the Scope of Prevention. *American Journal of Gastroenterology*, 111 (10), 1424–1426.

19. Liberati, A., Altman, D.G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P.C., Ioannidis, J.P.A., Clarke, M., Devereaux, P.J., Kleijnen, J., and Moher, D. (2009) The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS Med*, 6 (7), e1000100.

20. Eriksen, M.B., and Frandsen, T.F. (2018) The impact of patient, intervention, comparison, outcome (PICO) as a search strategy tool on literature search quality: a systematic review. *J Med Libr Assoc*, 106 (4), 420–431.

21. Ouzzani, M., Hammady, H., Fedorowicz, Z., and Elmagarmid, A. (2016) Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev*, 5 (1), 210.

22. Richard Landis, and Koch, G.G. (1977) The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*, 33 (1), 159–174.

23. Jahovic, N., Gedik, N., Ercan, F., Şirvanci, S., Yüksel, M., Şener, G., and Alican, I. (2006) Effects of statins on experimental colitis in normocholesterolemic rats. *Scand J Gastroenterol*, 41 (8), 954–962.

24. Kanagarajan, N., Nam, J.H., Al Noah, Z., and Murthy, S. (2008) Disease modifying effect of statins in dextran sulfate sodium model of mouse colitis. *Inflammation Research*, 57 (1), 34–38.
25. Maheshwari, R.A., Balaraman, R., Sailor, G.U., and Sen, D.B. (2015) Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Indian J Pharmacol*, 47 (1), 17–21.
26. El-Mahdy, N.A., El-Sayad, M.E., El-Kadem, A.H., and Abu-Risha, S.E. (2020) Targeting IL-10, ZO-1 gene expression and IL-6/STAT-3 trans-signaling by a combination of atorvastatin and mesalazine to enhance anti-inflammatory effects and attenuates progression of oxazolone-induced colitis. *Fundam Clin Pharmacol*, fcp.12563.
27. Zhang, X., Deng, Q.H., Deng, J.H., Wang, S.J., and Chen, Q. (2020) Lovastatin derivative dehydrolovastatin ameliorates ulcerative colitis in mice by suppressing NF- κ B and inflammatory cytokine expression. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 24 (2), 137–147.
28. Aktunc, E., Kayhan, B., Arasli, M., Gun, B.D., and Barut, F. (2011) The effect of atorvastatin and its role on systemic cytokine network in treatment of acute experimental colitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 33 (4), 667–675.
29. Soliman, N.A., Keshk, W.A., Rizk, F.H., and Ibrahim, M.A. (2019) The possible ameliorative effect of simvastatin versus sulfasalazine on acetic acid induced ulcerative colitis in adult rats. *Chem Biol Interact*, 298, 57–65.
30. Abe, Y., Murano, M., Murano, N., Morita, E., Inoue, T., Kawakami, K., Ishida, K., Kuramoto, T., Kakimoto, K., Okada, T., Narabayashi, K., Umegaki, E., and Higuchi, K. (2012) Simvastatin attenuates intestinal fibrosis independent of the anti-inflammatory effect by promoting fibroblast/myofibroblast apoptosis in the regeneration/healing process from TNBS-induced colitis. *Dig Dis Sci*, 57 (2), 335–344.
31. Maron, D.J., Fazio, S., and Linton, M.F. (2000) Current Perspectives on Statins. *Circulation*, 101 (2), 207–213.
32. Armitage, J. (2007) The safety of statins in clinical practice. *Lancet*, 370 (9601), 1781–1790.
33. Chow, S.C. (2009) Immunomodulation by statins: mechanisms and potential impact on autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 57 (4), 243–251.
34. Schachter, M. (2005) Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundam Clin Pharmacol*, 19 (1), 117–125.
35. Liao, J.K., and Laufs, U. (2005) PLEIOTROPIC EFFECTS OF STATINS. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 45 (1), 89–118.

36. Wang, C.Y., Liu, P.Y., and Liao, J.K. (2008) Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol Med*, 14 (1), 37–44.
37. Ungaro, R., Mehandru, S., Allen, P.B., Peyrin-Biroulet, L., and Colombel, J.F. (2017) Ulcerative colitis. *The Lancet*, 389 (10080), 1756–1770.
38. Dong, Z., Du, L., Xu, X., Yang, Y., Wang, H., Qu, A., Qu, X., and Wang, C. (2013) Aberrant expression of circulating Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with active and inactive ulcerative colitis. *Int J Mol Med*, 31 (4), 989–997.
39. Shimada, K., Park, J.K., and Daida, H. (2006) T helper 1/T helper 2 balance and HMG-CoA reductase inhibitors in acute coronary syndrome: Statins as immunomodulatory agents? *Eur Heart J*, 27 (24), 2916–2918.
40. Jans, D.M., Keyzer, W., Martinet, W., Bult, H., Herman, A.G., and Meyer, G.R.Y. (2005) Abstract no.: 4 Effect of statins on macrophage activation after platelet phagocytosis. *Fundam Clin Pharmacol*, 19 (3), 401–401.
41. Wang, J., Pan, Y., Cao, Y., Zhou, W., and Lu, J. (2019) Salidroside regulates the expressions of IL-6 and defensins in LPS-activated intestinal epithelial cells through NF- κ B/MAPK and STAT3 pathways. *Iran J Basic Med Sci*, 22 (1), 31–37.
42. Goyal, N., Rana, A., Ahlawat, A., Bijjem, K.R. V., and Kumar, P. (2014) Animal models of inflammatory bowel disease: A review. *Inflammopharmacology*, 22 (4), 219–233.
43. Lee, J.Y., Kim, J.S., Kim, J.M., Kim, N., Jung, H.C., and Song, I.S. (2007) Simvastatin inhibits NF- κ B signaling in intestinal epithelial cells and ameliorates acute murine colitis. *Int Immunopharmacol*, 7 (2), 241–248.
44. Cho, J.H., Sung, B.H., and Kim, S.C. (2009) Buforins: Histone H2A-derived antimicrobial peptides from toad stomach. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 1788 (8), 1564–1569.
45. Yang, J., Zhang, X.D., Yang, J., Ding, J.W., Liu, Z.Q., Li, S.G., and Yang, R. (2011) The cardioprotective effect of fluvastatin on ischemic injury via down-regulation of toll-like receptor 4. *Mol Biol Rep*, 38 (5), 3037–3044.
46. Liu, Y., Yin, H., Zhao, M., and Lu, Q. (2014) TLR2 and TLR4 in Autoimmune Diseases: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*, 47 (2), 136–147.
47. Fessler, M.B., and Parks, J.S. (2020) Inflammatory Cell Signaling Microdomains as Organizing Principles in Intracellular Lipid Flux and Membrane.
48. Chansrichavala, P., Chantharaksri, U., Sritara, P., Ngaosuwankul, N., and Chaiyaroj, S.C. (2010) Atorvastatin affects TLR4 clustering via lipid raft modulation. *Int Immunopharmacol*, 10 (8), 892–899.

49. Bahrami, A., Parsamanesh, N., Atkin, S., ... M.B.-P., and 2018, U. (2018) Effect of statins on toll-like receptors: a new insight to pleiotropic effects. *Pharmacol Res*, 135, 230–238.
50. Serasanambati, M. (2016) Function of Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) in human diseases-A Review Focusing on cancerous single cell signaling based on volatile metabolites using analytical and sensor based systems View project.
51. Hilgendorff, A., Muth, H., Parviz, B., Staubitz, A., Haberbosch, W., Tillmanns, H., and Hölschermann, H. (2003) Statins differ in their ability to block NF- κ B activation in human blood monocytes. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 41 (9), 397–401.
52. Luo, X., Yu, Z., Deng, C., Zhang, J., Ren, G., Sun, A., Mani, S., Wang, Z., and Dou, W. (2017) Baicalein ameliorates TNBS-induced colitis by suppressing TLR4/MyD88 signaling cascade and NLRP3 inflammasome activation in mice. *Sci Rep*, 7 (1), 1–14.
53. Dupaul-Chicoine, J., Yeretssian, G., Doiron, K., Bergstrom, K.S.B., McIntire, C.R., LeBlanc, P.M., Meunier, C., Turbide, C., Gros, P., Beauchemin, N., Vallance, B.A., and Saleh, M. (2010) Control of Intestinal Homeostasis, Colitis, and Colitis-Associated Colorectal Cancer by the Inflammatory Caspases. *Immunity*, 32 (3), 367–378.
54. Lissner, D., and Siegmund, B. (2011) The multifaceted role of the inflammasome in inflammatory bowel diseases. *ScientificWorldJournal*, 11, 1536–1547.
55. Strowig, T., Henao-Mejia, J., Elinav, E., and Flavell, R. (2012) Inflammasomes in health and disease. *Nature*, 481 (7381), 278–286.
56. Cho, J.H., Kim, E.J., Kim, E.K., Park, D.K., Kwon, K.A., Chung, J.W., Kim, K.O., and Kim, Y.J. (2017) Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of rosuvastatin by regulation of oxidative stress in a dextran sulfate sodium-induced colitis model. *World J Gastroenterol*, 23 (25), 4559–4568.
57. Cheng, G., Wei, L., Zhi-Dan, S., Shi-Guang, Z., and Xiang-Zhen, L. (2009) Atorvastatin ameliorates cerebral vasospasm and early brain injury after subarachnoid hemorrhage and inhibits caspase-dependent apoptosis pathway. *BMC Neurosci*, 10 (1), 1–11.
58. Huang, K.C., Chen, C.W., Chen, J.C., and Lin, W.W. (2003) Statins induce suppressor of cytokine signaling-3 in macrophages. *FEBS Lett*, 555 (2), 385–389.
59. Glas, J., Seiderer, J., Nagy, M., Fries, C., Beigel, F., Weidinger, M., Pfennig, S., Klein, W., Epplen, J.T., Lohse, P., Folwaczny, M., Göke, B., Ochsenkühn, T., Diegelmann, J., Müller-Myhsok, B., Roeske, D., and Brand, S. (2010) Evidence for STAT4 as a Common Autoimmune Gene: rs7574865 Is Associated with Colonic Crohn's Disease and Early Disease Onset. *PLoS One*, 5 (4), e10373.

60. Diaz-Gallo, L.M., Palomino-Morales, R.J., Gómez-García, M., Cardeña, C., Rodrigo, L., Nieto, A., Alcain, G., Cueto, I., López-Nevot, M.A., and Martin, J. (2010) STAT4 gene influences genetic predisposition to ulcerative colitis but not Crohn's disease in the Spanish population: A replication study. *Hum Immunol*, 71 (5), 515–519.
61. Jougasaki, M., Ichiki, T., Takenoshita, Y., and Setoguchi, M. (2010) Statins suppress interleukin-6-induced monocyte chemo-attractant protein-1 by inhibiting Janus kinase/signal transducers and activators of transcription pathways in human vascular endothelial cells. *Br J Pharmacol*, 159 (6), 1294–1303.
62. Fang, Z., Tang, Y., Fang, J., Zhou, Z., Xing, Z., Guo, Z., Guo, X., Wang, W., Jiao, W., Xu, Z., and Liu, Z. (2013) Simvastatin Inhibits Renal Cancer Cell Growth and Metastasis via AKT/mTOR, ERK and JAK2/STAT3 Pathway. *PLoS One*, 8 (5), e62823.
63. Pang, Y.H., Zheng, C.Q., Yang, X.Z., and Zhang, W.J. (2007) Increased expression and activation of IL-12-induced Stat4 signaling in the mucosa of ulcerative colitis patients. *Cell Immunol*, 248 (2), 115–120.
64. Rosen, M.J., Frey, M.R., Washington, K.M., Chaturvedi, R., Kuhnhein, L.A., Matta, P., Revetta, F.L., Wilson, K.T., and Polk, B.D. (2011) STAT6 activation in ulcerative colitis: A new target for prevention of IL-13-induced colon epithelial cell dysfunction. *Inflamm Bowel Dis*, 17 (11), 2224–2234.
65. Suzuki, A., Hanada, T., Mitsuyama, K., Yoshida, T., Kamizono, S., Hoshino, T., Kubo, M., Yamashita, A., Okabe, M., Takeda, K., Akira, S., Matsumoto, S., Toyonaga, A., Sata, M., and Yoshimura, A. (2001) CIS3/SOCS3/SSI3 plays a negative regulatory role in STAT3 activation and intestinal inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, 193 (4), 471–481.
66. Chami, B., Martin, N.J.J., Dennis, J.M., and Witting, P.K. (2018) Myeloperoxidase in the inflamed colon: A novel target for treating inflammatory bowel disease. *Arch Biochem Biophys*, 645, 61–71.
67. Naito, Y., Katada, K., Takagi, T., Tsuboi, H., Isozaki, Y., Handa, O., Kokura, S., Yoshida, N., Ichikawa, H., and Yoshikawa, T. (2006) Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, reduces the colonic inflammatory response in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Int J Mol Med*, 17 (6), 997–1004.
68. Zhang, X., and Markovic-Plese, S. (2008) Statins' immunomodulatory potential against Th17 cell-mediated autoimmune response. *Immunol Res*, 41 (3 SPEC. ISS.), 165–174.
69. Manna, M.J., Al-Karagoli, E.S., and Shakir Fadhil, Z. (2018) Effect of acute Atorvastatin treatment in an experimental model of colitis Production and Hosted by. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 10 (2), 1527–1534.

70. Kumar, N., and Singh, A. (2015) Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J Hum Reprod Sci*, 8 (4), 191.
71. Kumar, A.P., and Reynolds, W.F. (2005) Statins downregulate myeloperoxidase gene expression in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 331 (2), 442–451.
72. Zhou, T., Zhou, S. hua, Qi, S. shan, Shen, X. qian, Zeng, G. feng, and Zhou, H. nian (2006) The effect of atorvastatin on serum myeloperoxidase and CRP levels in patients with acute coronary syndrome. *Clinica Chimica Acta*, 368 (1–2), 168–172.
73. Singer, I.I., Kawka, D.W., Schloemann, S., Tessner, T., Riehl, T., and Stenson, W.F. (1998) Cyclooxygenase 2 is induced in colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 115 (2), 297–306.
74. Mouawad, C.A., Mrad, M.F., El-Achkar, G.A., Abdul-Sater, A., Nemer, G.M., Creminon, C., Lotersztajn, S., and Habib, A. (2016) Statins Modulate Cyclooxygenase-2 and Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 in Human Hepatic Myofibroblasts. *J Cell Biochem*, 117 (5), 1176–1186.
75. Scoditti, E., Massaro, M., Carluccio, M.A., Distante, A., Storelli, C., and De Caterina, R. (2010) PPAR γ agonists inhibit angiogenesis by suppressing PKC α -and CREB-mediated COX-2 expression in the human endothelium. *Cardiovasc Res*, 86 (2), 302–310.
76. Habib, A., Shamseddeen, I., Nasrallah, M.S., Antoun, T.A., Nemer, G., Bertoglio, J., Badreddine, R., and Badr, K.F. (2007) Modulation of COX-2 expression by statins in human monocytic cells. *The FASEB Journal*, 21 (8), 1665–1674.
77. Degraeve, F., Bolla, M., Blaie, S., Créminon, C., Quéré, I., Boquet, P., Lévy-Toledano, S., Bertoglio, J., and Habib, A. (2001) Modulation of COX-2 expression by statins in human aortic smooth muscle cells: Involvement of geranylgeranylated proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (50), 46849–46855.
78. Li, Q., Zhang, Q., Zhang, M., Wang, C., Zhu, Z., Li, N., and Li, J. (2008) Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on membrane microdomain localization of tight junction proteins in experimental colitis. *FEBS Journal*, 275 (3), 411–420.
79. Sasaki, M., Bharwani, S., Jordan, P., Joh, T., Manas, K., Warren, A., Harada, H., Carter, P., Elrod, J.W., Wolcott, M., Grisham, M.B., and Alexander, J.S. (2003) The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitor pravastatin reduces disease activity and inflammation in dextran-sulfate induced colitis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305 (1), 78–85.
80. Leung, T., Chen, X.Q., Manser, E., and Lim, L. (1996) The p160 RhoA-binding kinase ROK alpha is a member of a kinase family and is involved in the reorganization of the cytoskeleton. *Mol Cell Biol*, 16 (10), 5313–5327.

81. Kosako, H., Yoshida, T., Matsumura, F., Ishizaki, T., Narumiya, S., and Inagaki, M. (2000) Rho-kinase/ROCK is involved in cytokinesis through the phosphorylation of myosin light chain and not ezrin/radixin/moesin proteins at the cleavage furrow. *Oncogene*, 19 (52), 6059–6064.
82. Sarkar, K., Sinha, A.K., and Mehta, J.L. (2006) The role of statins in endothelial dysfunction in hypertension. *Curr Opin Cardiol*, 21 (4), 316–321.
83. Zheng, X., Tsuchiya, K., Okamoto, R., Iwasaki, M., Kano, Y., Sakamoto, N., Nakamura, T., and Watanabe, M. (2011) Suppression of *hath1* gene expression directly regulated by *hes1* via notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 17 (11), 2251–2260.
84. Fichtner-Feigl, S., Strober, W., Geissler, E.K., and Schlitt, H.J. (2008) Cytokines mediating the induction of chronic colitis and colitis-associated fibrosis. *Mucosal Immunol*, 1 (1), 24–27.
85. Rupérez, M., Rodrigues-Díez, R., Blanco-Colio, L.M., Sánchez-López, E., Rodríguez-Vita, J., Esteban, V., Carvajal, G., Plaza, J.J., Egido, J., and Ruiz-Ortega, M. (2007) HMG-CoA Reductase Inhibitors Decrease Angiotensin II-Induced Vascular Fibrosis. *Hypertension*, 50 (2), 377–383.
86. Xu, Z., Okamoto, H., Akino, M., Onozuka, H., Matsui, Y., and Tsutsui, H. (2008) Pravastatin Attenuates Left Ventricular Remodeling and Diastolic Dysfunction in Angiotensin II-Induced Hypertensive Mice. *J Cardiovasc Pharmacol*, 51 (1), 62–70.
87. Saka, M., Obata, K., Ichihara, S., Cheng, X.W., Kimata, H., Nishizawa, T., Noda, A., Izawa, H., Nagata, K., Murohara, T., and Yokota, M. (2006) Pitavastatin Improves Cardiac Function and Survival in Association With Suppression of the Myocardial Endothelin System in a Rat Model of Hypertensive Heart Failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, 47 (6), 770–779.
88. Bełtowski, J. (2005) Statins and modulation of oxidative stress. *Toxicol Mech Methods*, 15 (2), 61–92.
89. Kassan, M., Montero, M.J., and Sevilla, M.A. (2010) In vitro antioxidant activity of pravastatin provides vascular protection. *Eur J Pharmacol*, 630 (1–3), 107–111.
90. Cordle, A., Koenigsnecht-Talboo, J., Wilkinson, B., Limpert, A., and Landreth, G. (2005) Mechanisms of statin-mediated inhibition of small G-protein function. *Journal of Biological Chemistry*, 280 (40), 34202–34209.
91. Davignon, J., Jacob, R.F., and Mason, R.P. (2004) The antioxidant effects of statins. *Coron Artery Dis*, 15 (5), 251–258.
92. Hosseinzadeh, A., Bahrampour Juybari, K., Kamarul, T., and Sharifi, A.M. (2019) Protective effects of atorvastatin on high glucose-induced oxidative stress and

mitochondrial apoptotic signaling pathways in cultured chondrocytes. *J Physiol Biochem*, 75 (2), 153–162.

93. Elkatory, R., Abdelrahman, K., Hassanin, A., Elmasry, A., and Elkaref, A. (2015) Comparative Study between Effect of Simvastatin (5 mg/Kg) and Simvastatin (50 mg/Kg) in an Early Treatment of Experimentally Induced Colitis in Mice. *Br J Med Med Res*, 8 (11), 937–947.
94. Sathyapalan, T., Shepherd, J., Coady, A.-M., Kilpatrick, E.S., and Atkin, S.L. (2012) Atorvastatin Reduces Malondialdehyde Concentrations in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 97 (11), 3951–3955.
95. Kurutas, E.B., Cetinkaya, A., Bulbuloglu, E., and Kantarceken, B. (2005) Effects of antioxidant therapy on leukocyte myeloperoxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase and plasma malondialdehyde levels in experimental colitis. *Mediators Inflamm*, 2005 (6), 390–394.
96. Dudzińska, E., Gryzinska, M., Ognik, K., Gil-Kulik, P., and Kocki, J. (2018) Oxidative stress and effect of treatment on the oxidation product decomposition processes in IBD. *Oxid Med Cell Longev*, 2018.
97. Yilmaz, M.I., Baykal, Y., Kilic, M., Sonmez, A., Bulucu, F., Aydin, A., Sayal, A., and Kocar, I.H. (2004) Effects of statins on oxidative stress. *Biol Trace Elem Res*, 98 (2), 119–127.
98. Kondo, S., Toyokuni, S., Iwasa, Y., Tanaka, T., Onodera, H., Hiai, H., and Imamura, M. (1999) Persistent oxidative stress in human colorectal carcinoma, but not in adenoma. *Free Radic Biol Med*, 27 (3–4), 401–410.
99. D'Inca, R., Cardin, R., Benazzato, L., Angriman, I., Martines, D., and Sturniolo, G.C. (2004) Oxidative DNA Damage in the Mucosa of Ulcerative Colitis Increases With Disease Duration and Dysplasia. *Inflamm Bowel Dis*, 10 (1), 23–27.
100. Nishikawa, M., Oshitani, N., Matsumoto, T., Nishigami, T., Arakawa, T., and Inoue, M. (2005) Accumulation of mitochondrial DNA mutation with colorectal carcinogenesis in ulcerative colitis. *British Journal of Cancer* 2005 93:3, 93 (3), 331–337.
101. Suzuki, S., Tajima, T., Sassa, S., Kudo, H., Okayasu, I., and Sakamoto, S. (2006) Preventive effect of fluvastatin on ulcerative colitis-associated carcinogenesis in mice. *Anticancer Res*, 26 (6 B), 4223–4228.
102. Endo, K., Miyashita, Y., Sasaki, H., Ebisuno, M., Ohira, M., Saiki, A., Koide, N., Oyama, T., Takeyoshi, M., and Shirai, K. (2006) Probucol and Atorvastatin Decrease Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in Patients with Diabetes and Hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb*, 13 (1), 68–75.
103. Cangemi, R., Loffredo, L., Carnevale, R., Pignatelli, P., and Violi, F. (2008) Statins enhance circulating vitamin E. *Int J Cardiol*, 123 (2), 172–174.

104. Lei, A., Yang, Q., Li, X., Chen, H., Shi, M., Xiao, Q., Cao, Y., He, Y., and Zhou, J. (2016) Atorvastatin promotes the expansion of myeloid-derived suppressor cells and attenuates murine colitis. *Immunology*, 149 (4), 432–446.
105. Ikeda, M., Takeshima, F., Isomoto, H., Shikuwa, S., Mizuta, Y., Ozono, Y., and Kohno, S. (2008) Simvastatin attenuates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, but not oxazalone-induced colitis. *Dig Dis Sci*, 53 (7), 1869–1875.
106. Chang, S.-A., Kim, Y.-J., Lee, H.-W., Kim, D.-H., Kim, H.-K., Chang, H.-J., Sohn, D.-W., Oh, B.-H., and Park, Y.-B. (2009) Effect of Rosuvastatin on Cardiac Remodeling, Function, and Progression to Heart Failure in Hypertensive Heart With Established Left Ventricular Hypertrophy. *Hypertension*, 54 (3), 591–597.
107. Miura, K., Kinouchi, M., Ishida, K., Fujibuchi, W., Naitoh, T., Ogawa, H., Ando, T., Yazaki, N., Watanabe, K., Haneda, S., Shibata, C., and Sasaki, I. (2010) 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs. *Cancers (Basel)*, 2, 1717–1730.

CAPITULO II

ATORVASTATINA MELHORA A MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA PELO 5-FLUOROURACIL EM CAMUNDONGOS, MODULANDO A BARREIRA EPITELIAL E AS VIAS DE SINALIZAÇÃO INFLAMATÓRIA

Kátia Duarte Vital¹, Luiz Octavio Pires¹; Bruno Gallotti²; Janayne Luihan Silva³; Luís Cláudio Lima de Jesus⁴; Jacqueline Isaura Alvarez-Leite³; Ênio Ferreira⁵; Vasco Ariston de Carvalho Azevedo⁴; Flaviano Santos Martins²; Valbert Nascimento Cardoso¹; Simone Odília Antunes Fernandes¹

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

²Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

³Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

⁴Departamento de Genética, Ecologia e Evolução, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

⁵Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

* Artigo completo em inglês submetido em *Journal of Chemotherapy* – Encontr'a-se em processo de revisão.

Kátia Duarte Vital: <https://orcid.org/0000-0002-9094-4843>

Luiz Octavio Pires: <https://orcid.org/0009-0007-3295-131X>

Bruno Gallotti: <https://orcid.org/0000-0003-2441-4921>

Jacqueline Alvarez-Leite: <https://orcid.org/0000-0001-6601-9853>

Janayne Luihan Silva: <https://orcid.org/0000-0002-6975-1289>

Luís Cláudio Lima de Jesus <https://orcid.org/0000-0001-7708-3033>

Ênio Ferreira: <https://orcid.org/0000-0002-1835-0303>

Vasco Ariston de Carvalho Azevedo: <https://orcid.org/0000-0002-4775-2280>

Flaviano Santos Martins: <https://orcid.org/0000-0003-0741-3062>

Valbert Nascimento Cardoso: <https://orcid.org/0000-0001-7597-9602>

Simone Odília Antunes Fernandes: <https://orcid.org/0000-0002-6139-5187>

***Corresponding author**

Simone Odília Antunes Fernandes: Laboratory of Radioisotopes, Department of Clinical and Toxicological Analysis, Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos 6627 Pampulha, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil. Tel.: +55 31 34096892; fax: +55 31 34096985. E-mail: simoneodilia@yahoo.com.br

Resumo

A mucosite intestinal induzida pela quimioterapia é um importante efeito colateral do tratamento do câncer. As estatinas são inibidores da 3-hidroxi-3-metil glutaril coenzima redutase usada para tratar hipercolesterolemia e doenças ateroscleróticas. Estudos demonstraram que a atorvastatina (ATV) possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, resultantes da regulação de diferentes vias moleculares. No presente estudo, investigamos os efeitos da ATV na homeostase intestinal na mucosite induzida por 5-fluorouracil (5-FU). Nossos resultados mostraram que a ATV protegeu a mucosa intestinal do dano epitelial causado pelo 5-FU, principalmente devido a redução do infiltrado inflamatório, permeabilidade intestinal, regulação negativa de marcadores pró-inflamatórios, como Tlr4, MyD88, NF- κ B, Tnf- α , Il1 β e Il6 de maneira dependente de dose. A ATV também melhorou a função da barreira epitelial, regulando positivamente os níveis de transcrição de mRNA de mucina 2 (MUC2), ZO-1 e ocludina. Os resultados sugerem que os efeitos anti-inflamatórios e protetores da ATV na mucosite de camundongos induzida por 5-FU envolvem a inibição das vias de sinalização TLR4/MYD88/NPRL3/NF- κ B, iNos e caspase 3.

Palavras-chave: Quimioterapia; Mucosite; Danos intestinais; Atorvastatina; Reposicionamento farmacológico; Via do mevalonato; Barreira intestinal.

1. INTRODUÇÃO

As terapias antitumorais modernas incluem um amplo espectro de agentes antineoplásicos e radioterapia, que promovem inúmeros efeitos biológicos aos pacientes (Al-Ansari et al., 2015). A mucosite gastrointestinal é um dos efeitos colaterais mais debilitantes das terapias anticâncer (Villa & Sonis, 2015). Esta condição causa inflamação e perda de células da barreira epitelial, resultando em ulceração grave da cavidade oral e do trato gastrointestinal (Sonis, 2004).

A mucosite é importante fonte de morbidade, causando desconforto ao paciente e exigindo interrupções do tratamento, o que pode influenciar negativamente o prognóstico e aumentar a mortalidade (Cinausero et al., 2017; Raber-Durlacher et al., 2010). Embora a mucosite tenha se apresentado como uma condição subnotificada, dados disponíveis na literatura revelam que ela ocorre em 20 a 40% dos pacientes que recebem quimioterapia para tumores sólidos, em 60 a 80% dos pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoéticas e em aproximadamente 100% dos pacientes que recebem radioterapia e quimioterapia para câncer de cabeça e pescoço (Çakmak & Nural, 2019; Mortensen et al., 2012).

O tratamento e manejo da mucosite incluem o controle da dor, suporte nutricional, profilaxia, tratamento de infecções secundárias e agentes farmacológicos para reduzir a inflamação e a diarreia. Apesar de importantes no controle da mucosite, esses tratamentos variam muito de acordo com o contexto clínico do paciente e os protocolos de tratamento oncológico (Shankar et al., 2017; Van Sebille et al., 2015). Em muitos casos, inúmeras diferenças nos tratamentos propostos geram resultados conflitantes (Sonis, 2021; Villa & Sonis, 2020).

O reposicionamento farmacológico é uma alternativa para acelerar a aprovação de medicamentos e, ao mesmo tempo, minimizar os custos e riscos associados aos programas de desenvolvimento de novos medicamentos (Ashburn & Thor, 2004). Uma vantagem significativa dessa estratégia é que diversas características desses medicamentos, como farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade, já são bem conhecidas em animais e humanos, trazendo agilidade aos testes clínicos, pois novos candidatos podem estar prontos para testes mais rapidamente, e se aprovado pelas autoridades reguladoras, a sua integração na prática médica pode ser mais ágil (Armando et al., 2020; Bertolini et al., 2015).

As estatinas são inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase e representam a classe de medicamentos mais importante para pacientes com hipercolesterolemia. Vários estudos relataram reduções significativas na morbidade e mortalidade cardiovascular após terapia prolongada com estatinas (Q. Zhang et al., 2020). Embora as estatinas sejam adequadas para muitos mecanismos não hipolipemiantes, as propriedades pleiotrópicas incluem ações anti-inflamatórias, imunomoduladoras, antioxidantes e antiateroscleróticas diretas, o que pode contribuir para a saúde dos consumidores deste medicamento (Kavalipati et al., 2015).

Numerosos estudos demonstraram a eficácia das estatinas no tratamento da doença inflamatória intestinal (DII) e mucosite oral induzida pela radio e quimioterapia (A. da C. Medeiros, Azevedo, Lima, Araújo Filho, et al., 2018; C. A. C. X. Medeiros et al., 2011; Rashidian et al., 2016; Ungaro et al., 2016; Vital et al., 2023). No entanto, até onde sabemos, nenhum estudo investigou o papel anti-inflamatório e protetor da atorvastatina (ATV) no epitélio intestinal em um modelo experimental de mucosite. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar uma terapia alternativa envolvendo o reposicionamento farmacológico do ATV para a lesão causada pelo 5-FU no epitélio intestinal de camundongos.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 *Animais*

Camundongos BALB/c machos com 6 semanas de idade (peso 20-24 g) foram obtidos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG, Belo Horizonte, Brasil). Os camundongos foram mantidos em gaiolas sob temperatura (25 ± 2 °C) e sala controlada com ciclo claro/escuro (12h), com acesso *ad libitum* a água e ração padrão (Nuvilab, Nuvital, Curitiba, PR). Todos os procedimentos animais foram realizados de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (<http://www.mctic.gov.br/concea>). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê Local de Ética em Experimentação Animal (CEUA-UFMG, Protocolo número 266/2019).

2.2 *Design Experimental*

Os camundongos foram randomizados em seis grupos experimentais (n = 6 animais por grupo): controle (CT), atorvastatina (ATV 10 mg/kg), mucosite (MUC), mucosite e tratados com atorvastatina (MUC+ATV 5, 10 e 30 mg /kg). A mucosite foi induzida pela administração intraperitoneal (i.p.) de 5-FU (Fauldfluor® Libbs, São Paulo, Brasil) na dose de 30 mg/kg/dia a partir do 2º dia de protocolo durante 5 dias. Solução salina estéril 0,9% foi usada como controle pela mesma via (T. Y. Huang et al., 2009). A atorvastatina (MERCK and CO., Inc., Rahway, NJ, EUA) foi dissolvida em solução salina (NaCl 0,9%) e administrada por gavagem nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg/dia do primeiro ao 7º dia de protocolo. No último dia do protocolo, todos os animais foram anestesiados com solução de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (16 mg/kg) (Agener União, Embu-Guaçu, Brasil). O intestino delgado foi removido e medido, e seções do íleo foram coletadas para análise.

2.3 *Avaliação da perda de peso e diarreia*

A ingestão de alimentos/líquidos, peso corporal e pontuação de diarreia para cada camundongo foram analisados por dia. A gravidade da diarreia foi monitorada e pontuada durante o período experimental de 7 dias, conforme descrito por (Kurita et al., 2000), como segue: 0 - normal (fezes normais); 1 - leve (fezes levemente úmidas e moles); 2 - moderado (fezes úmidas e informes com coloração perianal moderada da pelagem); e 3 - grave (fezes aquosas com forte coloração perianal da pelagem).

2.4 *Análise histopatológica e morfométrica*

Secções de tecido do íleo foram fixadas em formaldeído tamponado a 4% e processadas para inclusão em parafina. Para cada amostra, pelo menos dois cortes histológicos (4–5 µm) foram corados com hematoxilina-eosina (HE) e ácido periódico de Schiff (PAS), codificados e analisados por um único patologista que desconhecia as condições experimentais de cada amostra e grupo. Para análise morfométrica do íleo, as fotografias foram realizadas em microscópio de luz convencional com aumento de 20x (Olympus – BX41 - Tóquio, Japão) e a inflamação da mucosa foi avaliada por meio de escores histopatológicos (Soares et al., 2008). O comprimento das vilosidades foi medido da base ao ápice, e os dados foram expressos em micrômetros utilizando o programa ImageJ (versão 1.47f, Wayne Rasband/National Institutes of Health, EUA - disponível online em <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>). As células caliciformes foram contadas em dez campos/lâminas. Essas análises também foram realizadas utilizando ImageJ.

2.5 *Permeabilidade intestinal*

No último dia do protocolo, todos os animais receberam 0,1mL de ácido dietilenotriaminopentaacético marcado com tecnécio-99m (99mTc-DTPA, 13MBq) por via oral 4h antes da eutanásia. O sangue foi coletado, pesado e colocado em tubos apropriados para determinação da radioatividade. Os níveis de radioatividade sanguínea foram determinados utilizando um contador gama automático (Wizard 1480; PerkinElmer/Wallac, Turku/Finlândia). Os dados foram expressos como % dose/g, utilizando a seguinte equação: % dose/g = $\text{cpm em g de sangue} / \text{cpm do padrão} \times 100$, onde cpm representa as contagens de radioatividade por minuto (de Barros et al., 2018).

2.6 *Atividade da mieloperoxidase*

A presença de neutrófilos nos tecidos foi avaliada indiretamente pela determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) (Coutinho et al., 2021). Resumidamente, 100 mg de tecido do íleo foram homogeneizados em 1,9 mL de PBS e centrifugados a 12.000 g durante 10 minutos. Em seguida, os sobrenadantes foram descartados e as amostras foram levadas para o processo de lise. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas, os sobrenadantes descartados e o sedimento ressuspensão em tampão. Posteriormente foram realizados três ciclos de congelamento e descongelamento em nitrogênio líquido. Por fim, as amostras foram centrifugadas e os sobrenadantes foram coletados para o ensaio enzimático. Para tanto, o substrato o-fenilenodiamina (OPD) e H₂O₂ in Tris-HCl foram

utilizados e a reação foi interrompida com H₂SO₄. A absorbância foi lida a 450 nm em um espectrofotômetro de microplacas (Epoch, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA), e os resultados foram expressos em unidades relativas.

2.7 Atividade da peroxidase de eosinófilos

O acúmulo de eosinófilos no íleo foi quantificado pela determinação da atividade da peroxidase eosinofílica (EPO) (Strath et al., 1985). Assim, 100 mg de tecido foram homogeneizados em 1,9 mL de PBS e centrifugados a 10.000 g por 10 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi removido e o sedimento foi ressuspensão em 1,9 mL de HTAB a 0,5% em PBS. Logo após, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido, descongeladas três vezes e centrifugadas a 4°C e 10.000 g por 10 minutos. Posteriormente, 75 µL de sobrenadante foram adicionados a 75 µL de OPD diluído em Tris-HCl e H₂O₂ e incubados a 20°C por 30 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 50 µL de H₂SO₄ a 1 M antes de ser lida em espectrofotômetro (Epoch) a 492 nm em microplaca. Os resultados foram expressos como unidades relativas.

2.8 IgA secretora (sIgA)

O método ELISA determinou o nível de sIgA no fluido intestinal (Coutinho et al., 2021). Após a eutanásia dos animais, o intestino delgado foi removido por corte nas junções gastroduodenal e ileocecal. O conteúdo foi removido, pesado e lavado com PBS, pH 7,2, suplementado com inibidores de protease (aprotinina 1 µM, leupeptina 25 µM, pepstatina 1 µM e PMSF 1 mM) na proporção de 2,0 mL de PBS para cada 500 mg de conteúdo. Após centrifugação a 5.000 g por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante foi coletado e congelado a -80°C para posterior análise. Para determinação de sIgA, foram utilizadas microplacas revestidas com anticorpos anti-IgA de camundongo de cabra (M-8769, Sigma, Saint Louis, MO, USA) para a detecção de anticorpo conjugado com peroxidase anti-IgA de camundongo sIgA foi utilizado (A-4789, Sigma). A concentração total de sIgA foi determinada usando um padrão de IgA purificado (0106-01, Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AL, USA). As leituras foram feitas a 492 nm em leitor de microplacas (Epoch) e a concentração de sIgA foi determinada em µg/g de líquido intestinal.

2.9 Estresse oxidativo

Amostras do intestino delgado foram coletadas e lavadas com PBS para remover o conteúdo intestinal e homogeneizadas em PBS gelado (1mL para cada 1g de tecido). Os fragmentos de tecido foram centrifugados a 12.000 g durante 10 min à temperatura ambiente. O sobrenadante foi coletado e analisado quanto à peroxidação lipídica por meio de ensaios de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), concentração de peróxido de hidrogênio e atividade de SOD. Todos os resultados foram normalizados usando a concentração de proteína tecidual.

Para avaliação do TBARS resumidamente, o ensaio envolve a reação de produtos de peroxidação lipídica; principalmente o malondialdeído (MDA) com ácido tiobarbitúrico (TBA) leva à formação de TBARS, que foi medido espectrofotometricamente a 530 nm. As concentrações de hidroperóxido foram medidas pela oxidação do xilenol laranja como descrito anteriormente por Ewing e colaboradores (Ewing et al., 2018). O princípio básico deste método é a oxidação de íons ferrosos pelos agentes oxidantes da amostra em íons férricos, que se ligam ao laranja de xilenol para dar um complexo que foi medido espectrofotometricamente a 560 nm. Por último, a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada de forma semelhante à descrita por Quintanilha e colaboradores (Quintanilha et al., 2022). Assim, para o cálculo da atividade, considerou-se que 1 unidade (U) de SOD poderia impedir a auto-oxidação de 50% do pirogallol do padrão, que foi medido espectrofotometricamente a 570 nm. Após normalização pela concentração proteica no intestino delgado, o resultado foi expresso em unidades de SOD por miligrama de proteína.

2.10 Expressão gênica no íleo de camundongos

O RNA total foi extraído de 30 mg de tecido do íleo, previamente armazenado em 500 µL de solução posterior de RNA (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) para preservar as amostras, utilizando o reagente TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em conformidade com as orientações do fabricante. As concentrações de RNA foram determinadas espectrofotometricamente utilizando um NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), considerando razões de absorvância de 280/260 e 260/230 nm. A qualidade das amostras de RNA foi avaliada em gel de eletroforese de agarose (1,5%). O RNA extraído foi tratado por 15 min em temperatura ambiente com DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Depois disso, a enzima foi desativada (10 min 65 °C com 25 mM EDTA). Um micrograma de RNA total foi transcrito reversamente

usando o kit de transcrição reversa de cDNA de alta capacidade (Applied Biosystems™, ThermoFisher, Waltham, MA, USA) em conformidade com suas diretrizes, formando ácido desoxirribonucléico complementar (cDNA) usando os seguintes parâmetros: 25 °C por 10 min, 37 °C por 120 min, 85 °C por 5 min.

PCR quantitativo de transcrição reversa (RT-qPCR) foi realizado usando master mix Applied Biosystems Power SYBR Green PCR (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) e primers específicos de gene para receptor Toll-like 4 (Tlr4), resposta primária de diferenciação mieloide 88 (Myd88), fator nuclear-kappa B subunidade p105 (Nfkb), óxido nítrico sintase (iNos), família de receptores semelhantes a NOD, domínio pirina contendo 3 (Nlpr3), fator de crescimento transformador beta-1 (Tgfb1), fator de necrose tumoral (Tnf), interleucinas b (Il1b), 6 (Il6), 10 (Il10), mucina 2 (Muc2), zonulina (Hp) e ocludina (Ocln). As transcrições foram todas normalizadas usando actina beta (Actb) e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Gapdh) (Giulietti et al., 2001) genes domésticos (Tabela 1). A abordagem experimental foi otimizada ajustando as concentrações dos primers (5, 10 e 15 pmol) para testar a especificidade e eficiência ideais. A pureza dos produtos de PCR foi verificada por curvas de fusão e eletroforese em gel. Os parâmetros do ciclo de PCR foram os seguintes: desnaturação inicial a 95 °C por 10 min, 95 °C por 15 s, recozimento/extensão a 60 °C por 1 min, 40 ciclos e um estágio de dissociação para registro da curva de fusão. Os resultados foram mostrados graficamente como mudanças na expressão gênica, usando as médias e desvios padrão da expressão do gene alvo. Os dados foram analisados de acordo com a expressão relativa pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$. Os dados são representativos de dois experimentos independentes.

Tabela 1: Primers (qPCR) usados neste estudo.

Gene	Primer Abertura	Primer Reverso	Referencia
<i>Gapdh</i>	TCACCACCATGGAGAAGGC	GCTAAGCAGTTGGTGGTGCA	Giulietti et al. (2001)
<i>Tlr4</i>	ATGGCATGGCTTACACCACC	GAGGCCATTTTTGTCTCCACA	Chang et al. (2020)
<i>Myd88</i>	ATCGCTGTTCTTGAACCCCTCG	CTCACGGTCTAACAAGGCCAG	Chang et al. (2020)
<i>Nfkb1 (p105)</i>	GTGGAGGCATGTTTCGGTAGTG	TCTTGGCACAATCTTTAGGGC	Zheng et al. (2017)
<i>Il6</i>	GAGGATACTACTCCCAACAGACC	AAGTGCATCATCGTTGTTTCATACA	Giulietti et al. (2001)
<i>Il10</i>	GGTTGCCAAGCCTTATCGGA	ACCTGCTCCACTGCCTTGCT	Giulietti et al. (2001)
<i>Tnf</i>	ACGTGGAAGTGGCAGAAGAG	CTCCTCCACTTGGTGGTTTG	Song et al. (2013)
<i>Il1b</i>	CTCCATGAGCTTTGTACAAGG	TGCTGATGTACCAGTTGGGG	Song et al. (2013)
<i>Muc2</i>	GATGGCACCTACCTCGTTGT	GTCCTGGCACTTGTGGAAT	Volynets et al. (2016)
<i>Occludin</i>	ACTCCTCCAATGGACAAGTG	CCCCACCTGTCGTGTAGTCT	Volynets et al. (2016)
<i>Zonulin</i>	CCACCTCTGTCCAGCTCTTC	CACCGGAGTGATGGTTTTCT	Volynets et al. (2016)
<i>iNos2</i>	CAGCTGGGCTGTACAAACCTT	CATTGGAAGTGAAGCGTTTCG	Giulietti et al. (2001)
<i>Caspase 3</i>	CGTGGTTCATCCAGTCCCTTT	ATTCCGTTGCCACCTTCCTC	Benli et al., 2021

2.11 Análise estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad, Inc., La Jolla, CA, EUA). Os dados foram avaliados quanto à normalidade da distribuição por meio do teste de Shapiro-Wilk. Os dados que assumiram distribuição normal foram testados por análise de ANOVA seguida de teste de comparação múltipla de Newman-Keuls. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas de Dunn. Um teste de Mann-Whitney comparou a ingestão de alimentos e líquidos antes e depois da indução da inflamação por 5-FU. Os resultados foram expressos como médias, erros padrão, medianas e intervalos interquartis. Uma diferença significativa foi definida como $p < 0,05$.

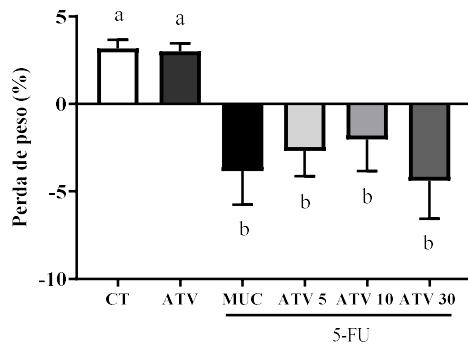
3. RESULTADOS

3.1 *A atorvastatina reduz a diarreia, mas não previne a perda de peso*

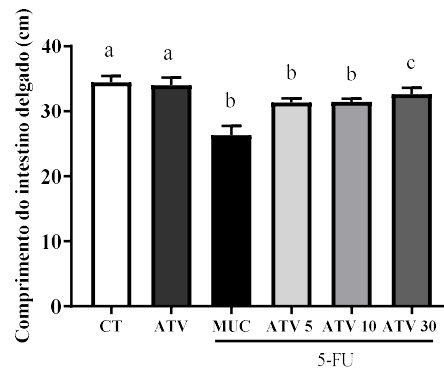
A administração diária de 5-FU causou uma diminuição significativa no consumo de alimentos (Fig. 1c) e água (Fig. 1d), perda de peso corporal e redução do comprimento do intestino delgado em todos os grupos em comparação com os grupos controle (CT) e ATV. Uma exceção foi observada com ATV 30 mg/kg, evitou o encurtamento do intestino ($p < 0,05$; fig. 1b).

Os escores de diarreia dos camundongos foram registrados diariamente e os resultados de todos os grupos foram comparados (Fig. 1e). Nenhuma episódio de diarreia foi observado nos grupos CT ou ATV. Contudo, a administração repetida de 5-FU aos animais causou o aparecimento de diarreia no quarto dia de protocolo. O menor escore de diarreia foi obtido no grupo ATV, sendo que a dose de 10 mg/kg retardou o início da diarreia e gerou escores mais baixos ($p < 0,05$).

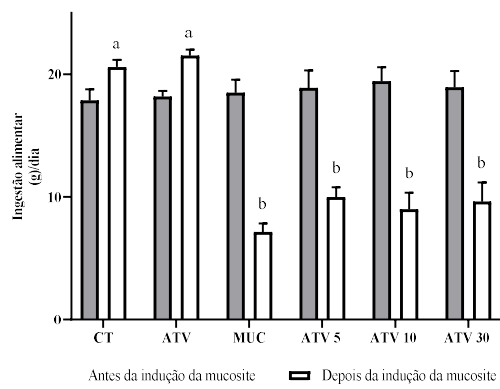
(a)



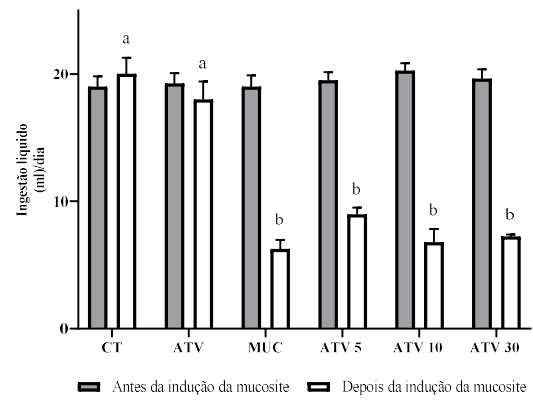
(b)



(c)



(d)



(e)

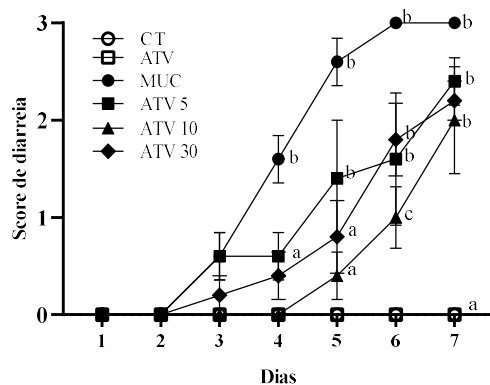


Figura 1 - A atorvastatina 30 mg/kg protege contra o encurtamento do intestino delgado (a) Perda de peso corporal, (b) Comprimento do intestino delgado, (c) Alimentar, (d) Ingestão de líquidos, (e) Avaliação dos escores de diarreia. Letras diferentes (a, b), indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls e o escore de diarreia foi analisado pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. Os escores de diarreia foram definidos como: 0-normal; 1 – leve; 2 – moderado; 3 – grave.

3.2 A atorvastatina reduz a atividade da enzima mieloperoxidase e peroxidase eosinofílica

O recrutamento de células inflamatórias para a mucosa intestinal é uma característica comum da indução da inflamação por 5-FU. Este estudo avaliou a presença de infiltrado ileal de neutrófilos e eosinófilos através da detecção das atividades das enzimas mieloperoxidase (MPO) e eosinófilo peroxidase (EPO), respectivamente. O grupo 5-FU apresentou alto nível de atividade de MPO ($0,424 \pm 0,183$ UA/mg; Figura 2a) e EPO ($0,078 \pm 0,030$ UA/mg; Figura 2b) quando comparado ao grupo CT ($0,090 \pm 0,046$; $0,78 \pm 0,0309$ UA/mg; $p < 0,0001$). Entretanto, houve redução significativa na atividade enzimática de neutrófilos (MPO) e eosinófilos (EPO) após a administração da ATV, onde o grupo ATV 30 mg/kg apresentou níveis fisiológicos de MPO ($0,109 \pm 0,036$ UA/mg) semelhantes aos do grupo CT grupo ($p > 0,05$; Figura 2a).

A Figura 2c mostra que o tratamento com 5-FU induziu uma redução significativa ($p < 0,01$) nos níveis de sIgA presentes no líquido do intestino delgado (MUC) em comparação com o grupo CT. Os resultados também mostraram que as doses de ATV (5, 10 e 30 mg/kg) não recuperaram os níveis fisiológicos de sIgA ($p > 0,05$).

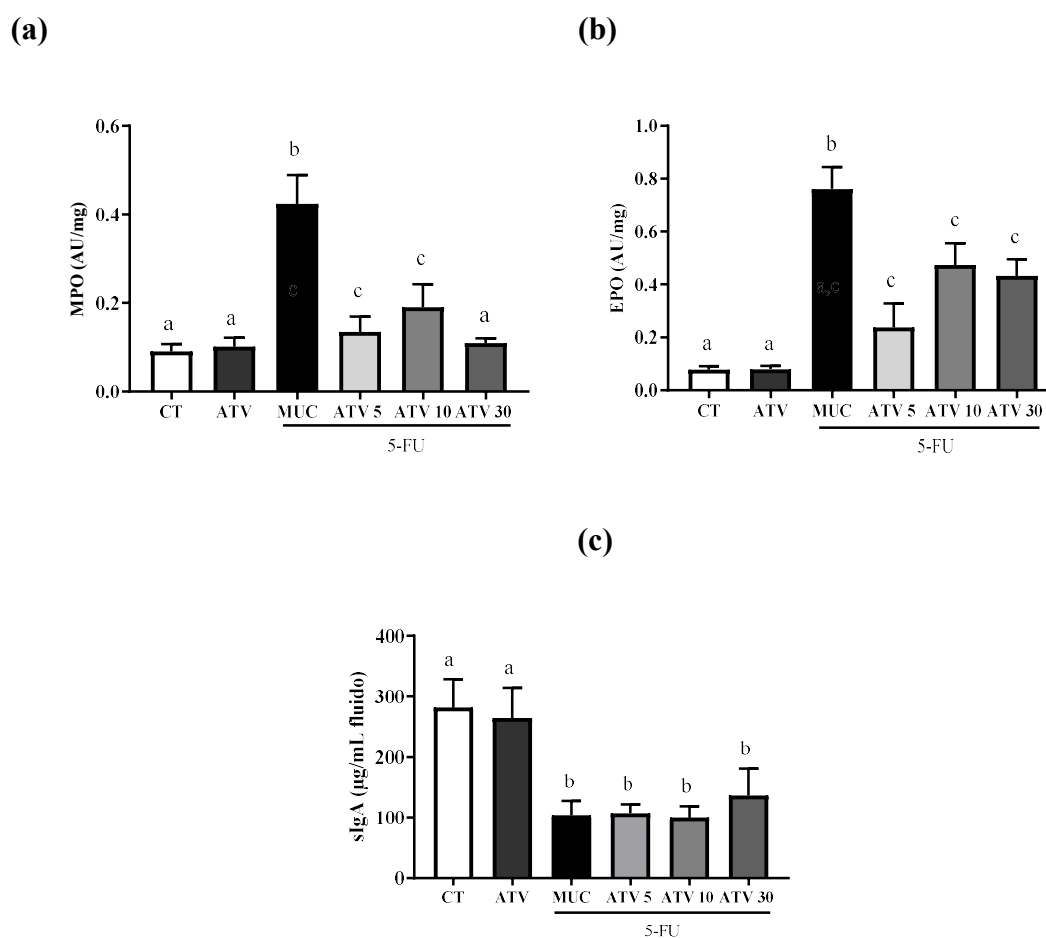
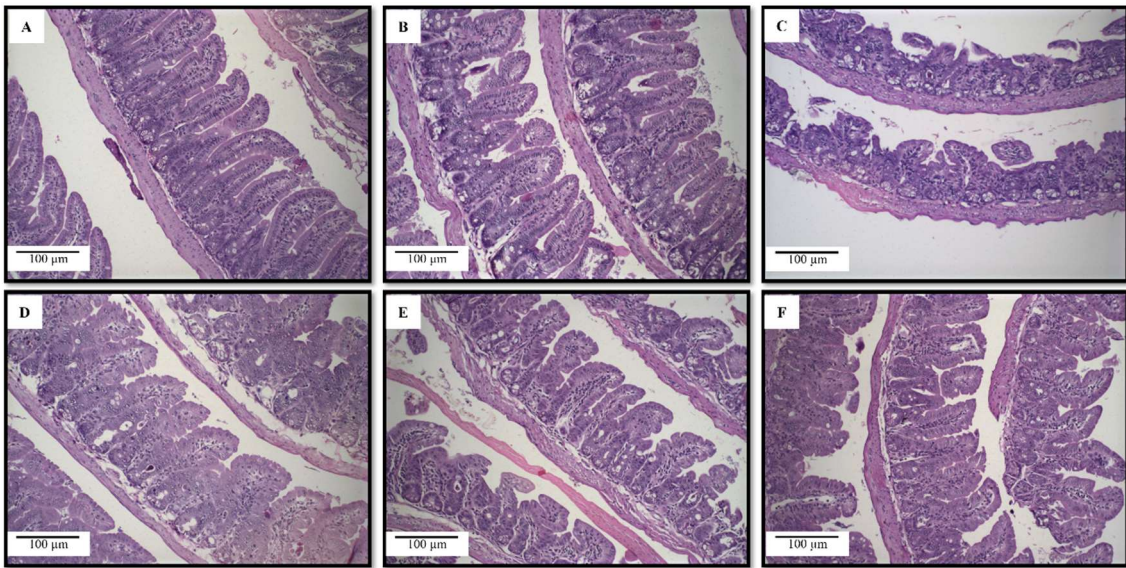


Figura 2 - Efeito protetor da atorvastatina na infiltração de células inflamatórias. (a) Mieloperoxidase, (b) Peroxidase de eosinófilos, (c) sIgA. Letras diferentes (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.

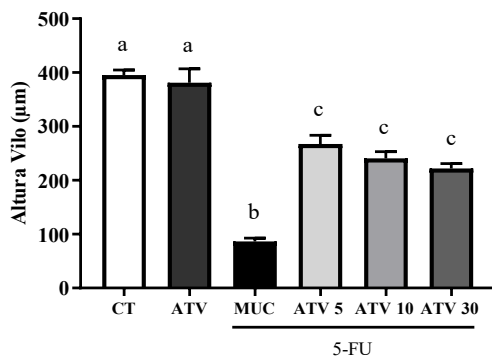
3.3 *ATV atenua os danos histopatológicos induzidos pela quimioterapia*

A análise histopatológica mostrou que o grupo MUC apresentou alterações significativas na integridade da mucosa, como encurtamento de vilosidades, necrose de criptas e intensa infiltração de células inflamatórias na lâmina própria, em comparação ao grupo CT (fig. 3a). O tratamento com ATV melhorou o dano à mucosa intestinal induzido pelo 5-FU, com restauração significativa da arquitetura da mucosa. A altura das vilosidades (Fig. 3b), a preservação da profundidade da cripta (Fig. 3c) e a relação entre altura das vilosidades e profundidade da cripta aumentaram (Fig. 3d). A Figura 3e mostra que os animais do grupo mucosite apresentaram pontuações mais altas, enquanto os tratamentos com ATV em todas as doses melhoraram as pontuações ($p < 0,05$).

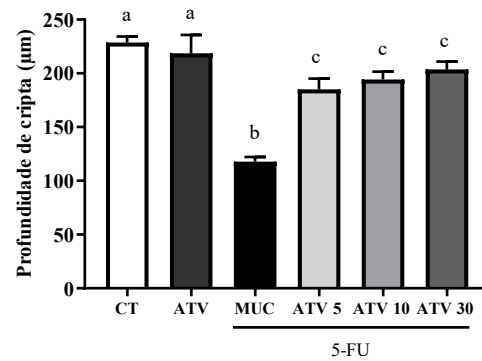
(a)



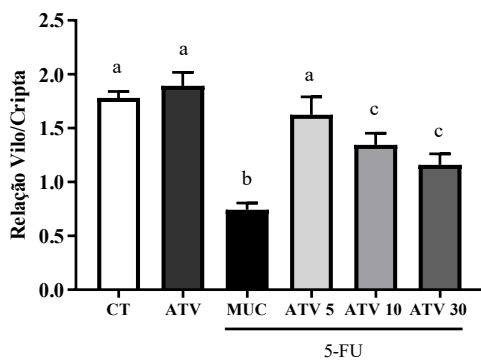
(b)



(c)



(d)



(e)

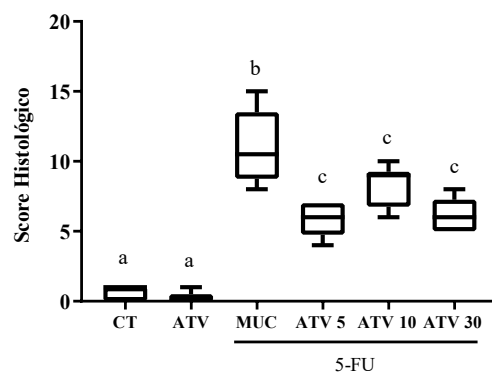


Figura 3 - A atorvastatina protege a mucosa intestinal contra danos epiteliais induzidos por 5-FU. (a) Imagens histopatológicas de íleo de camundongo (objetiva: $\times 20$, escala 100 μm - CT (A); ATV (B); Muc (C); MUC + ATV 5 mg/kg (D); MUC + ATV 10 mg/kg

(E); MUC + ATV 30 mg/kg (F). (b) altura das vilosidades (c) profundidade das criptas (d) relação entre altura das vilosidades e profundidade das criptas (e) Pontuação histopatológica. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste post hoc de Dunn (e) ou ANOVA seguido pelo pós-teste de Newman-Keuls (a-c).

3.4 A atorvastatina previne a permeabilidade intestinal induzida por 5-FU, aumenta e regula positivamente a expressão do gene das proteínas de junção estreita, mas não reduz o estresse oxidativo no intestino delgado

A permeabilidade intestinal foi avaliada após administração oral (13 MBq) de ^{99m}Tc -DTPA e 4 horas após a gavagem, o sangue foi coletado para determinação da radioatividade (fig. 4a). Como esperado, a permeabilidade intestinal do grupo MUC aumentou ($0,404 \pm 0,066\%$) quando comparada à do grupo CT ($0,031 \pm 0,021\%$; $p < 0,001$). Em contraste, todos os animais que receberam tratamento com ATV (5, 10 e 30 mg/kg) apresentaram permeabilidade intestinal reduzida.

Como a permeabilidade paracelular está ligada a interações proteicas de junção estreita (TJ), a expressão do gene ZO-1 e da ocludina também foi investigada. Os resultados de ZO-1 e ocludina mostraram que a inflamação causada pela administração de 5-FU promoveu aumento da expressão de mRNA de ambos. Observou-se também que os grupos ATV nas doses de 5 e 30 mg/kg exibiram níveis mais elevados de ZO-1 (Fig. 4b). Em contraste, todos os tratamentos com ATV em todas as doses aumentaram significativamente a expressão de ocludina (Fig. 4c). Portanto, estes resultados sugerem que a regulação positiva destas proteínas sob inflamação epitelial intestinal pode ter um efeito protetor, principalmente após a administração de ATV.

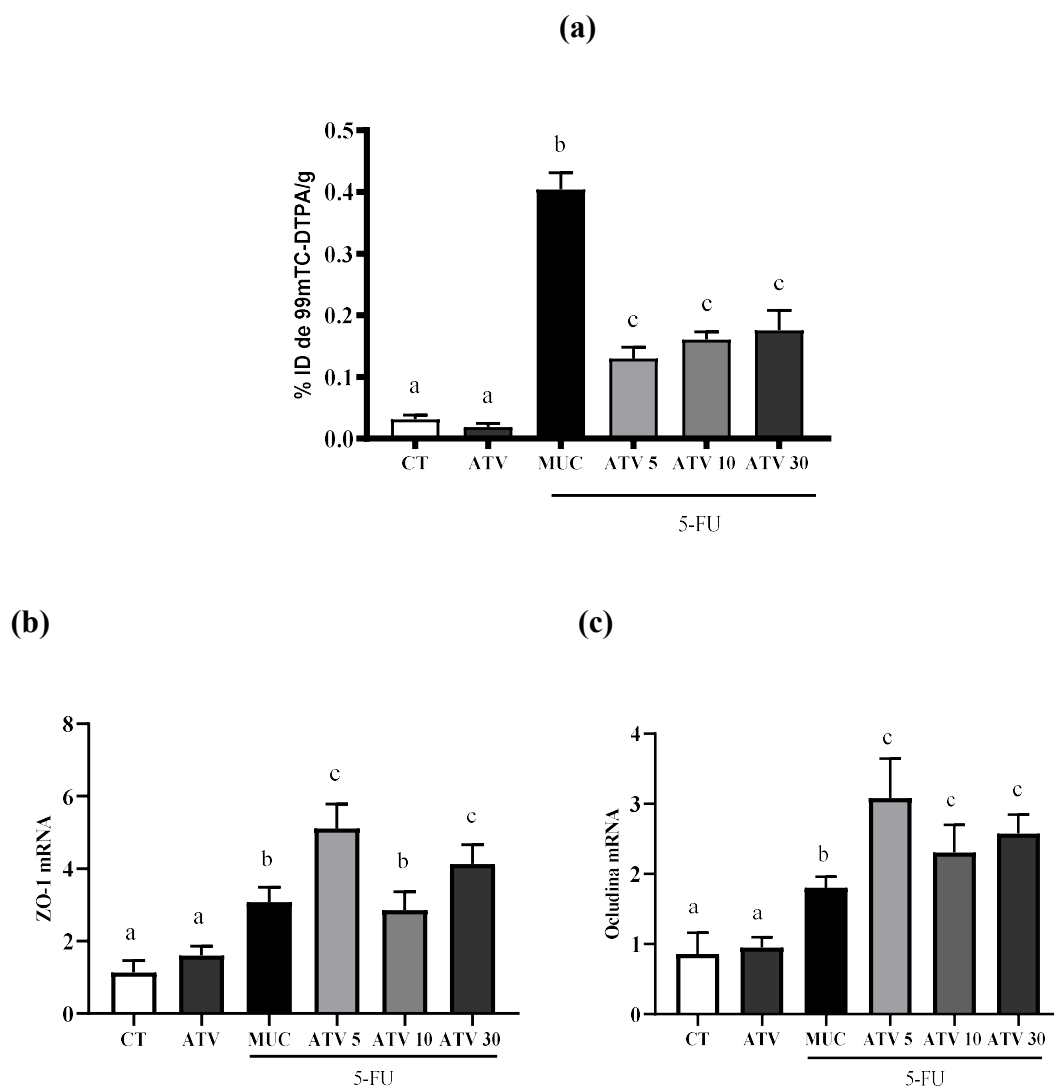


Figura 4 - A atorvastatina diminui a permeabilidade intestinal e regula positivamente a expressão gênica das proteínas das junções estreitas. (a) Permeabilidade intestinal, (b-c) Expressão gênica relativa de proteínas de junção estreita. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls

Em relação à peroxidação lipídica, a concentração de hidroperóxidos (Fig. 5a), TBARS (Fig. 5b) e enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD; Fig. 5c) e glutathione peroxidase (Fig. 5d) no intestino delgado e íleo de todos os grupos foram semelhantes ($p > 0,05$).

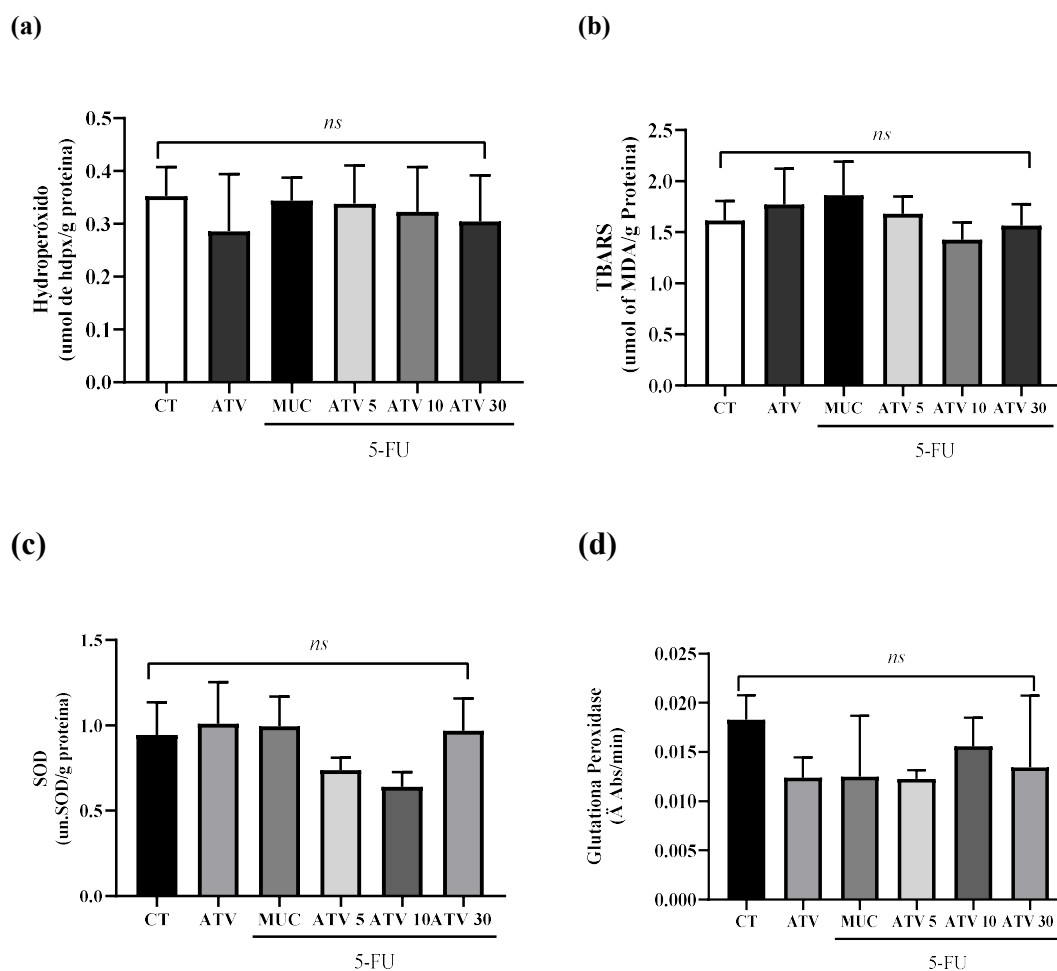


Figura 5 - Estresse oxidativo no íleo. (a) Concentração de hidroperóxidos, (b) Concentração de TBARS, (c) Concentração de SOD, (d) Concentração de glutathiona peroxidase. ns não indica diferença estatística ($p > 0,05$). pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls

3.5 *ATV diminui a expressão gênica de medidores pro-inflamatórios induzidos pela quimioterapia*

Os camundongos do grupo MUC exibiram um aumento significativo na expressão gênica de mRNA de todas as citocinas pró-inflamatórias (Il6, Il1b e Tnf) investigadas em comparação ao grupo CT (Fig. 6a, 6b e 6c, $p < 0,05$). Em contrapartida, os animais que receberam tratamento com ATV apresentaram regulação negativa dessas citocinas, atingindo níveis fisiológicos ($p < 0,05$). Os resultados não mostraram diferenças estatisticamente significativas de IL-10 entre os grupos MUC com ou sem tratamento com ATV para IL-10 (Fig. 6d, $p > 0,05$). Em relação à expressão de mRNA de TG β , os

resultados mostraram um aumento significativo para todos os grupos investigados tratados com 5-FU, exceto para os grupos CTL e ATV (Fig. 6e, $p < 0,05$).

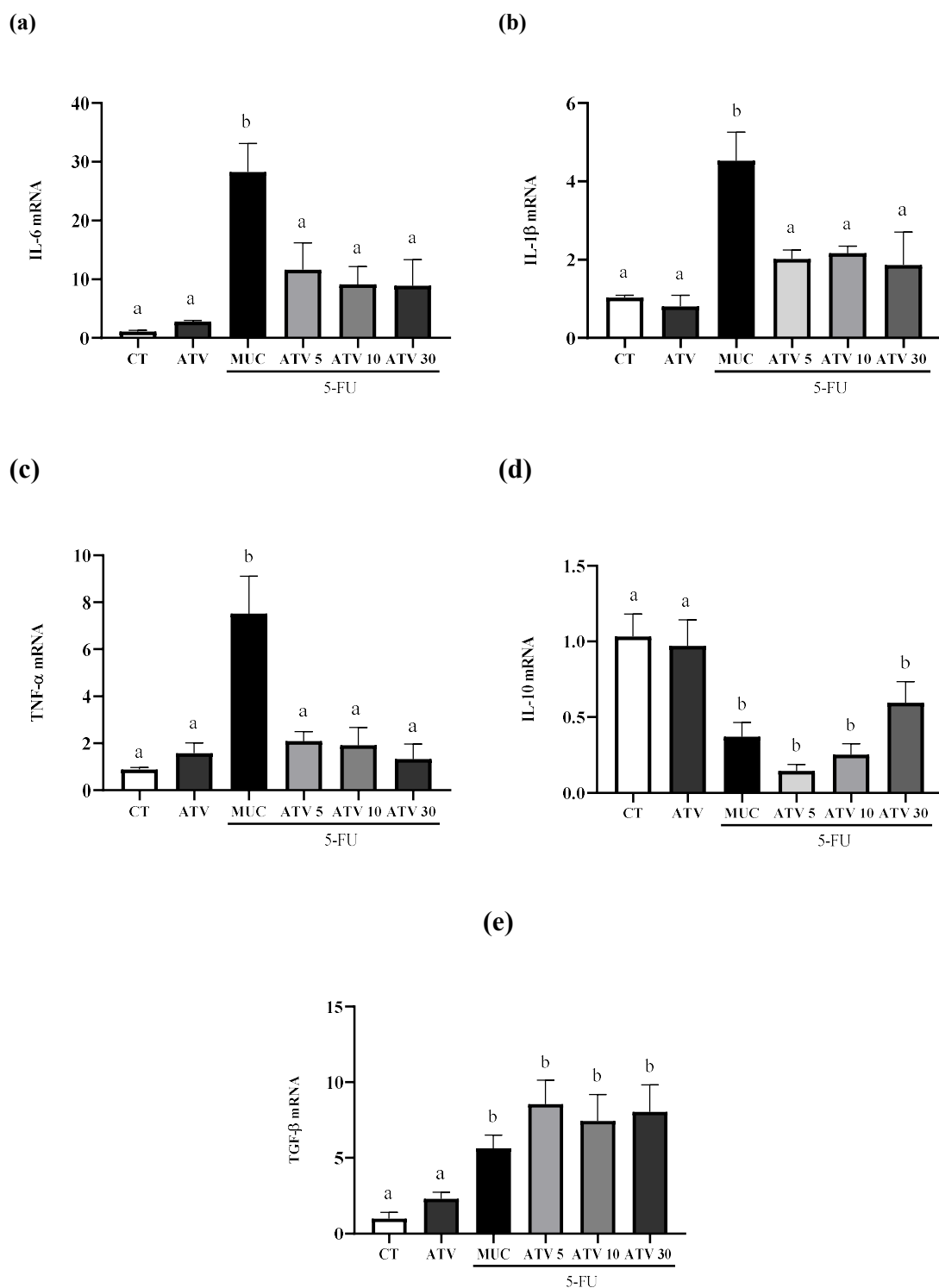
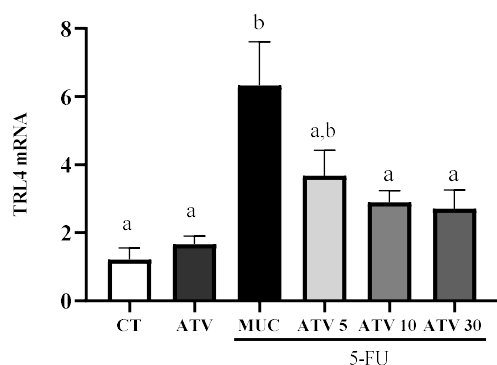


Figura 6 - A atorvastatina regula negativamente a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias induzida por 5-FU. (a) Il6 (b) Il1b, (c) Tnf e (d) Il-10 e (e) Tgf-β. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida dos pós-teses de Newman-Keuls

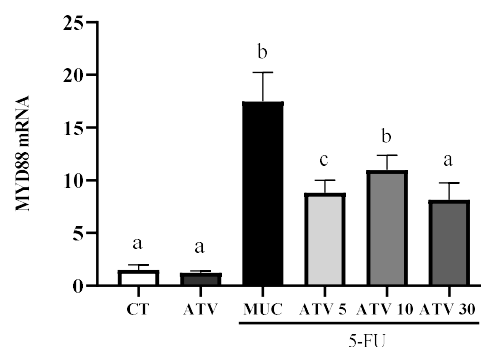
3.6 *A atorvastatina modula a expressão gênica de TLR4/MYD88/iNos/NPRL3/NF-κB e a via de sinalização de caspases*

Os camundongos do grupo MUC apresentaram expressão gênica significativamente aumentada de mRNA de Tlr4, Myd88, iNos, NPRL3 e Nfkb1 (Fig. 7a, 7b, 7c, 7d e 7e, $p < 0,05$) quando comparados com CT e ATV e o tratamento com ATV foi capaz de reduzir expressão gênica dessas proteínas ($p < 0,05$). Em relação à expressão de mRNA da caspase 3, os resultados mostraram um aumento significativo no grupo MUC (Fig. 7f, $p < 0,05$) em comparação aos grupos CT e ATV. Todas as doses de tratamento reduziram a expressão de mRNA da caspase 3 (Fig. 7f) ($p < 0,05$).

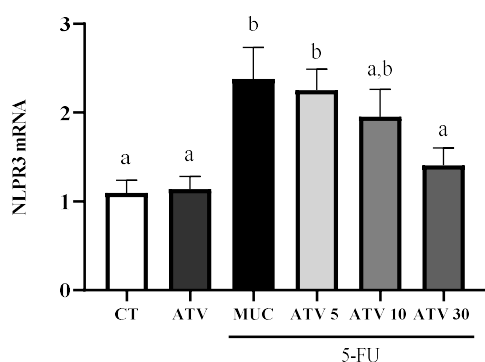
(a)



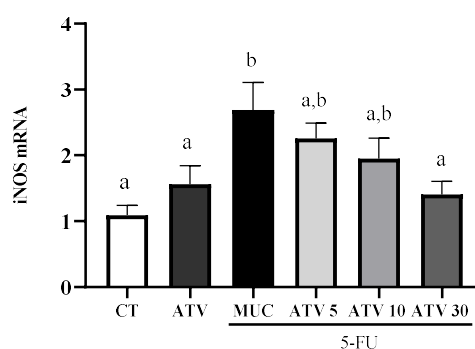
(b)



(c)



(d)



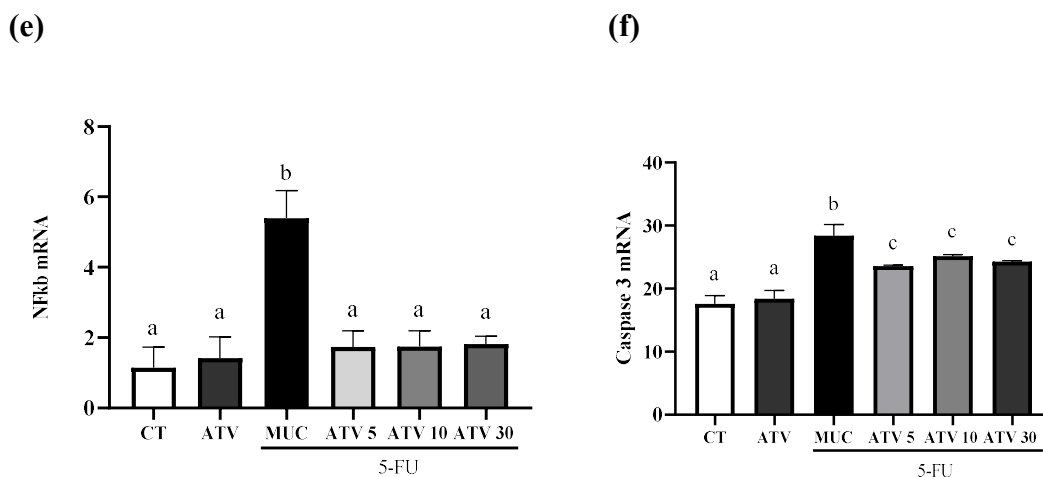
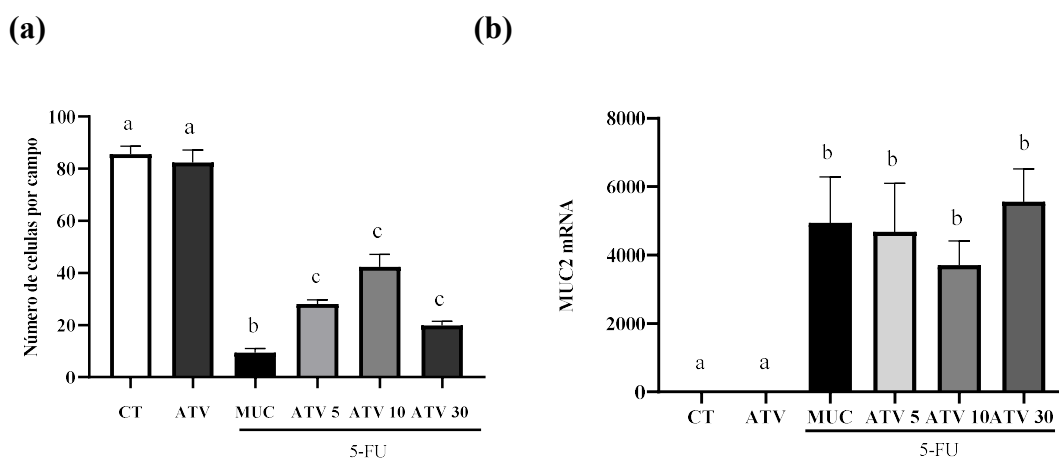


Figura 7 - A atorvastatina regula negativamente a expressão gênica de marcadores envolvidos com a ativação da via de sinalização NF- κ B induzida por 5-FU. (a) Trl4 (b) Myd88, (c) Nplr3, (d) iNos, (e) Nfkb1 e (f) Caspases 3. Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) por ANOVA seguido pelos post-teste de Newman-Keuls

3.7 Atorvastatina reduz a lesão de células caliciformes induzida por 5-FU

Uma redução significativa no número de células caliciformes também foi observada no íleo de camundongos que receberam 5-FU ($9,44 \pm 4,90$ células/campo) em comparação com o grupo CT ($85,56 \pm 9,180$ células/campo; $p < 0,05$). Todas as doses de tratamento com ATV reduziram a perda de células caliciformes ($p < 0,05$; Fig. 8c). Além disso, a expressão do gene Muc2 foi significativamente aumentada no grupo 5-FU; no entanto, os grupos tratados com ATV não apresentaram diferenças na expressão do gene Muc2 em comparação com o grupo MUC ($p > 0,05$; Fig. 8b).



(c)

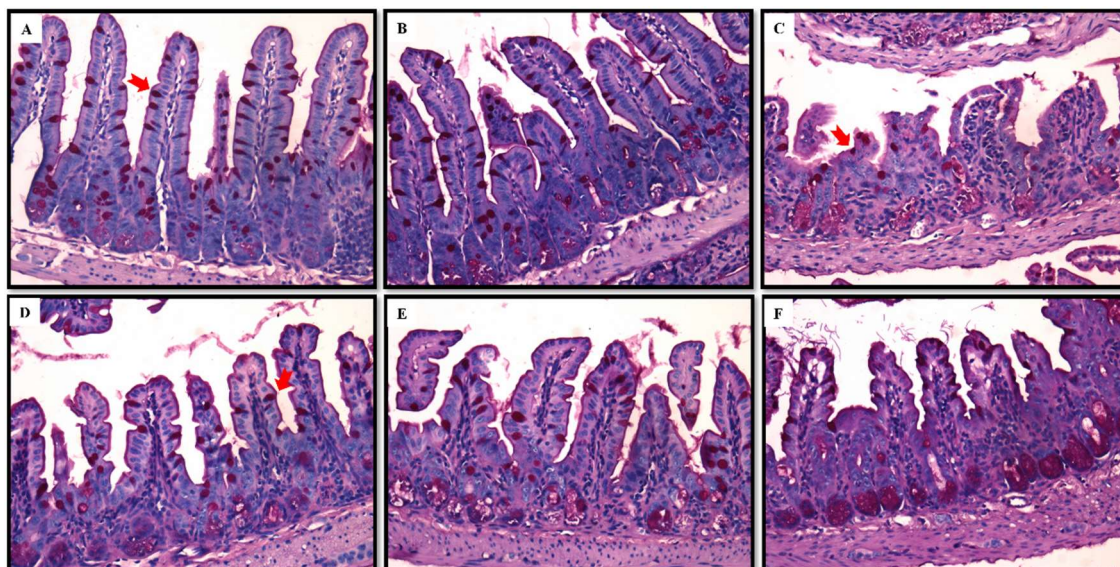


Figura 8 - A atorvastatina melhorou o número de células de caliciformes. (a) Número de células caliciformes, (b) Expressão gênica relativa da mucina 2 (Muc2) e (c) fotomicrografias representativas da seção do íleo coradas com Ácido Periódico-Schiff (PAS), as setas mostram as células caliciformes (objetiva: $\times 40$, escala 100 μm). Letras diferentes (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.

4. DISCUSSÃO

A mucosite é uma inflamação gastrointestinal que afeta a qualidade de vida dos pacientes submetidos ao tratamento de doenças malignas (Sonis, 2004). Atualmente, as terapias padrão disponíveis para prevenir e tratar a doença não são muito eficazes. O reposicionamento/reaproveitamento de medicamentos é um conceito que utiliza medicamentos já existentes para tratar diferentes distúrbios, economizando tempo e dinheiro e permite a entrada direta em ensaios clínicos, uma vez que já foram submetidos a perfis de toxicidade e segurança (Kirtonia et al., 2021).

A ATV é um inibidor sintético da HMG-CoA redutase de terceira geração (Plosker & Lyseng-Williamson, 2007). Ao inibir a HMG-CoA redutase, a síntese de mevalonato é reduzida e, consequentemente, várias outras vias isoprenóides, importantes modificadores pós-traducionais são afetadas, com mecanismos independentes de seus efeitos redutores do colesterol. Os efeitos pleiotrópicos mais importantes da ATV são suas atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomoduladoras (Bełtowski, 2005; Kavalipati et al., 2015; Liao & Laufs, 2005).

A inflamação e perda da barreira epitelial do trato digestivo caracterizam a mucosite causando lesões mucosas e ulcerações em todo o trato gastrointestinal (Sougiannis et al., 2021). A perda de peso corporal pode estar relacionada à má absorção devido a lesões na mucosa intestinal, resultando na perda da superfície absorptiva (Oliveira et al., 2021). Em nosso estudo, os camundongos inflamados apresentaram extensa perda de peso, diretamente correlacionada com a redução no consumo de água e ração, observada durante o protocolo experimental. Também foi observado encurtamento com comprimento do intestino delgado. No entanto, o tratamento com a ATV não melhorou significativamente estes resultados. Da mesma forma, Medeiros e colaboradores (A. da C. Medeiros, Azevedo, Lima, Filho, et al., 2018) não observaram redução na perda de massa corporal após tratamento com sinvastatina em modelo de mucosite induzida por 5-FU.

A avaliação da diarreia por meio de aplicação de pontuação para o perfil clínico dos animais mostrou que o início da diarreia ocorreu em até 4 dias após a administração de 5-FU, sendo que os episódios mais graves ocorreram nos dias seis e sete do protocolo experimental. Consistente com esses dados, Huang et al. (T. Y. Huang et al., 2009), que utilizaram o mesmo protocolo experimental, também observaram um pico de diarreia após o quinto dia (C. S. Lee et al., 2014). O tratamento com 10 mg/kg de ATV neste estudo reduziu as pontuações do score e atrasou o início da diarreia. Da mesma forma, outros estudos utilizando rosuvastatina, sinvastatina e ATV em modelos de colite demonstraram uma redução no índice de atividade da doença que considera a diarreia como parâmetro de análise (El-Mahdy et al., 2020; Manna et al., 2018; X. Zhang et al., 2020).

A análise histológica do íleo mostrou que os animais com mucosite induzida por 5-FU apresentaram danos teciduais, encurtamento das vilosidades, redução das criptas e infiltrado inflamatório na lâmina própria, submucosa e camadas musculares. O tratamento com ATV melhorou a integridade estrutural da mucosa ileal, indicando o seu papel benéfico na inflamação. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos que avaliaram a atividade das estatinas na mucosite e na colite, demonstrando papel enteroprotetor para a mucosa gastrointestinal (Aktunc et al., 2011; A. da C. Medeiros, Azevedo, Lima, Filho, et al., 2018; Park et al., 2004; Rashidian et al., 2016).

A permeabilidade intestinal aumenta após a quimioterapia, sendo uma das características do terceiro e quarto estágios da mucosite (Sonis, 2004), considera-se a permeabilidade aumentada quando ocorre permeação das moléculas maiores que 150 Da (Viele, 2003).

Neste estudo, a permeabilidade intestinal foi avaliada por meio do monitoramento da radioatividade no sangue após administração oral de ^{99m}Tc -DTPA. Este composto é um complexo dissódico com peso molecular de 549 Da e meia-vida física de 6 horas, apresentando características ideais de monitoramento da permeabilidade intestinal. Outros estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa mostraram aumento da permeabilidade intestinal após administração de 5-FU (Barroso et al., 2021; De Jesus et al., 2019; Galdino et al., 2018). Nossos resultados mostraram que o tratamento com ATV reduziu significativamente a permeabilidade intestinal em animais inflamados, e acreditamos que esses resultados estão diretamente correlacionados com a regulação positiva das proteínas de junção (TJs) e a ação anti-inflamatória da ATV.

Estudos demonstraram a diminuição de proteínas de junção como ZO-1 e ocludinas, na mucosite (Andrade et al., 2023; Batista et al., 2022). Além disso, sua depleção corresponde ao aumento da permeabilidade intestinal e à diminuição da resistência transepitelial. Em nossos resultados, a expressão das proteínas TJ aumentou no grupo MUC e resultados semelhantes também foram observados por Chang et al. (Chang et al., 2020). Os efeitos das drogas quimioterápicas, como o 5-FU, na barreira epitelial intestinal através da expressão de proteínas TJ são relatados de forma inconsistente, podendo ser atribuído a diferenças nos regimes, protocolos experimentais ou modelos animais utilizados (Capaldo et al., 2017; Wardill & Bowen, 2013). Além disso, a renovação da mucosa intestinal ocorre a cada 3-4 dias, e após a injeção de 5-FU a superexpressão de ZO-1 pode ocorrer para compensar a perda da barreira intestinal (T. M. Ferreira et al., 2012). Acreditamos que o modelo fracionado de indução de mucosite também pode pressionar o processo de renovação celular, estimulando a superexpressão de ZO-1 (H. L. Li et al., 2017). Ferreira et al. (T. M. Ferreira et al., 2012) também encontraram dados semelhantes aos nossos, mostrando aumento da expressão de ZO-1 em animais inflamados. ZO-1 é uma proteína TJ que interage com ocludina, ZO-2, ZO-3 e actina, reduzindo a permeabilidade intestinal e induzindo a diferenciação celular. O aumento da expressão dessas proteínas indica maior reparo tecidual após o dano induzido pelo 5-FU. Nossos resultados mostraram que os animais inflamados tratados com ATV superexpressaram ZO-1 e ocludina. Outros estudos sobre modelos de doenças inflamatórias intestinais demonstraram que o tratamento com ATV e pravastatina reduziu a permeabilidade e aumentou a expressão de TJ (El-Mahdy et al., 2020; Sasaki et al., 2003). A literatura indica que a ATV tem atividade sobre a Rho quinase (ROCK), uma serina-treonina quinase que desempenha um papel essencial na regulação da função da

barreira epitelial, ROCK medeia a contração da actomiosina, resultando na reorganização do TJ (Leung et al., 1996; Wang et al., 2008). As estatinas têm um efeito inibitório na via ROCK porque a inibição da biossíntese do colesterol bloqueia a formação de intermediários isoprenóides, que são essenciais para a isoprenilação de Rho GTPases, como Rho e Rac (Liang & Weber, 2014; T. Zhou et al., 2006). A isoprenilação é uma etapa crítica no tráfego intracelular e na ativação de Rho GTPases (Q. Zhou & Liao, 2009). A função RhoA alterada suprime a sinalização ROCK e reduz a permeabilidade (Sarkar et al., 2006).

As enzimas MPO e EPO foram avaliadas no íleo para determinar indiretamente o influxo de neutrófilos e eosinófilos respectivamente. Observamos que os animais que receberam 5-FU apresentaram aumento significativo na atividade dessas enzimas, o que é consistente com resultados de outros estudos (Barroso et al., 2021; de Barros et al., 2018; De Jesus et al., 2019). O tratamento com ATV modulou fortemente as atividades de MPO e EPO em animais inflamados. Estudos demonstraram que as estatinas suprimem fortemente a expressão do gene MPO, reduzindo os níveis de mRNA da MPO em 20-200 vezes em monócitos macrófagos e precursores da medula óssea (Kumar & Reynolds, 2005). Este efeito supressor foi observado com estatinas naturais e sintéticas, incluindo sinvastatina, ATV, pravastatina e lovastatina, e está relacionado com a inibição da isoprenilação dependente de mevalonato de pequenas proteínas de ligação a GTP (Andreou et al., 2010; T. Zhou et al., 2006). Em relação à atividade das estatinas sobre a EPO, estudos demonstraram que as estatinas reduzem a migração de eosinófilos para o tecido inflamado, o que também explica a redução da EPO em nossos resultados (Liou et al., 2014).

IgA é o anticorpo primário encontrado nas secreções mucosas e atua como primeira linha de defesa, protegendo contra microrganismos, neutralizando bactérias patogênicas e controlando os comensais no intestino delgado (Corthésy, 2013; Wells et al., 2017). O tecido linfóide associado ao intestino (GALT) é considerado o centro da imunidade mucosa devido à sua massa e função, e grandes quantidades de sIgA são produzidas (Nagayoshi et al., 2005). Na mucosite, a sIgA desempenha um papel central, pois esta imunoglobulina é um contribuidor essencial para a homeostase, promovendo respostas anti-inflamatórias nas superfícies mucosas (Ren et al., 2016). Nós investigamos o papel da sIgA na regulação da inflamação e nossos resultados mostraram que houve supressão dessa imunoglobulina nos animais que receberam 5-FU, e nenhuma das concentrações de ATV utilizadas neste estudo alterou a produção de IgA. Contrariamente aos nossos

resultados, outros estudos indicam um aumento nos níveis de sIgA no intestino delgado de grupos inflamados (Barroso et al., 2021; Carvalho et al., 2021). Este evento está relacionado à resposta fisiológica do organismo para a manutenção da homeostase intestinal após a perda da integridade da mucosa causada pela inflamação (Schmucker et al., 2003). Nossos resultados podem estar associados à extensa destruição dos linfócitos responsáveis pela produção de IgA no GALT pelo 5-FU. A literatura indica que uma pequena dose de 5-FU (10 mg/kg) pode reduzir substancialmente o número de linfócitos efetores no GALT, promovendo redução nos níveis de IgA intestinal e respiratória (Kobayashi et al., 2019).

No presente estudo, os animais inflamados do grupo MUC apresentaram superexpressão de TLR4/MYD88 e NF- κ B. A ativação de TLR4 induziu vias dependentes e independentes de MYD88 como uma molécula adaptadora chave essencial para a sinalização intracelular que desencadeia a cascata de ativação de NF- κ B (Wong et al., 2015). Nossos resultados indicaram uma expressão reduzida de TLR4/MYD88 e NF- κ B nos grupos ATV em todas as doses. Esses resultados corroboram de outros estudos que demonstram a regulação negativa desses genes pela ATV (Rashidian et al., 2016; Yue et al., 2017). O papel da ATV na supressão de TLR4 é através da inibição do mevalonato, bloqueando as jangadas lipídicas, essenciais para a sinalização de TLR4, resultando na inibição de MYD88 e NF- κ B (Fessler & Parks, 2011; Parsamanesh et al., 2019). Nossos resultados também demonstram um efeito inibitório dependente da dose de ATV nos inflamassomas NLRP3 em animais inflamados. Estudos indicam que a redução de NLRP3 também pode ser mediada pela supressão da via TLR4/MyD88/NF- κ B (F. Kong et al., 2016).

A expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL6, IL1 β e TNF- α , no intestino delgado de roedores após quimioterapia aumenta significativamente, estas citocinas desempenham um papel crítico na gênese e no desenvolvimento da mucosite intestinal após a administração de 5-FU. Os animais MUC apresentaram um aumento significativo nas citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL6 e IL1 β . Em contraste, os grupos tratados com ATV apresentaram regulação negativa da expressão de IL6, IL1 β e TNF- α . Esses resultados estão de acordo com relatos de Medeiros et al. (2011), Aktunc et al. (2011), and Rashidian et al. (2016), no qual a ATV diminuiu os níveis de IL6, IL β e TNF- α em modelos animais de mucosite oral e colite. A ativação do NF- κ B promove a secreção de citocinas inflamatórias, e o efeito inibitório na produção de citocinas pode estar

relacionado à supressão do NF-kb (Aktunc et al., 2011; El-Mahdy et al., 2021; C. A. C. X. Medeiros et al., 2011; Rashidian et al., 2016).

TGF β 1 e IL10 foram analisados como citocinas anti-inflamatórias. Em contrapartida, a ATV não aumentou a expressão da citocina anti-inflamatória IL10. Nossos achados corroboram os resultados de Perucha et al. (2019), que demonstraram que o distúrbio da via de biossíntese do colesterol induz inibição específica da expressão de IL10 (Perucha et al., 2019). Ao avaliar a citocina TGF β 1, nossos resultados mostram que os níveis de transcritos foram regulados positivamente após a administração de 5-FU e, curiosamente, foram mantidos mesmo com a administração de ATV. O TGF β 1 é uma citocina abundante na mucosa intestinal com efeitos pleiotrópicos e propriedades anti-inflamatórias ou pró-inflamatórias dependendo do contexto ambiental da mucosa. Na mucosite, o TGF β 1 aumenta, afetando vários processos biológicos, incluindo fibrose, cicatrização de feridas e respostas imunológicas (M. O. Li et al., 2006). Nossos resultados não se correlacionam com o que é tipicamente encontrado na literatura, que aponta para a regulação negativa do TGF β 1 pelas estatinas através da inibição de RhoA/ROCK, que ativa a via Smad (Abe et al., 2012; Y.-H. Wei et al., 2021). Dentre as possíveis hipóteses para esse cenário, a literatura indica que a regulação negativa do TGF- β 1 está correlacionada com a redução da citocina IL10, na qual os níveis de TGF β 1 permanecem aumentados como mecanismo anti-inflamatório compensatório para controlar o dano tecidual e restaurar a homeostase intestinal interrompido pela quimioterapia com 5-FU (Batista et al., 2022; Gomes-Santos et al., 2017).

A expressão de iNOS e a produção de óxido nítrico (NO) estão associadas à inflamação intestinal. Os resultados demonstraram que o 5-FU estimulou a expressão do gene iNOS e a ATV reduziu de forma dependente da dose a expressão de iNOS em animais inflamados. Nossos dados se correlacionam com estudos anteriores que demonstraram a inibição da expressão de iNOS pela fluvastatina em modelos de colite (Oishi et al., 2014b). A literatura indica que a inibição da isoprenilação de Rho pelas estatinas pode modular os níveis de NO regulando negativamente a expressão de iNOS (Kotamraju et al., 2007; C.-Y. Wei et al., 2006).

A quimioterapia com 5-FU ativa mecanismos apoptóticos de células intestinais, sendo a caspase 3 o principal efetor das vias apoptóticas. Observamos o aumento da expressão de caspase 3 em animais tratados com 5-FU, e todas as doses de ATV reduziram a expressão de caspase 3. A literatura também apoia estes resultados em modelos de colite induzida por DSS e oxazolona apresentado por Shin et al. (2017) e El-Mahdy et al. (2020), que

observaram redução da caspase 3, destacando a atividade antiapoptótica essencial das estatinas (El-Mahdy et al., 2021; Shin et al., 2017).

A superprodução de espécies reativas de oxigênio é um dos principais mediadores do dano tecidual induzido pela quimioterapia (Logan et al., 2008; Yan et al., 2019). Estudos relataram que as estatinas podem reduzir o estresse oxidativo através de algumas vias, incluindo a eliminação direta de radicais, efeitos nas células inflamatórias, a atividade da iNOS, a atividade de antioxidantes endógenos, a inibição do citocromo P450 hepático e a redução da captação de LDL-ox pelos receptores necrófagos (Bełtowski, 2005). Para avaliar o papel antioxidante da ATV no modelo de mucosite, medimos MDA, hidroperóxido, SOD e glutathione peroxidase no íleo. Surpreendentemente, nossos resultados não mostraram diferenças entre os animais inflamados e os tratados com ATV Gadino et al. e Leocádio et al. (Galdino et al., 2018; Leocádio et al., 2015), que também avaliaram o estresse oxidativo no íleo em modelo de mucosite induzida por 5-FU, obtiveram resultados semelhantes, destacando que ocorreu aumento da peroxidação lipídica entre 24h e 48h após a indução da mucosite, e não houve diferenças após 72h de mucosite (Maeda et al., 2009). Em nosso estudo, os animais foram eutanasiados 120 horas após a primeira dose de 5-FU e 24 horas após a última dose, o que pode explicar esses resultados.

As células caliciformes sintetizam e secretam mucinas, constituindo a camada mucosa protetora que reveste a superfície epitelial. Estudos anteriores relataram que a quimioterapia poderia danificar as células caliciformes, resultando na diminuição da produção de mucina e expondo o epitélio a danos causados pela degradação bacteriana e agentes nocivos no lúmen (Stringer et al., 2009). Observamos uma diminuição no número de células caliciformes no epitélio da mucosa intestinal de camundongos tratados com 5-FU e uma redução no tamanho e na intensidade da cor dessas células. O tratamento com ATV aumenta o número de células caliciformes. Nossos dados corroboram os de Soliman e colaboradores que observaram restauração do epitélio intestinal e regeneração de criptas intestinais após tratamento de colite com sinvastatina (N. Soliman et al., 2019). As mucinas são glicoproteínas ácidas de alto peso molecular secretadas pelas células caliciformes, e a MUC2 faz parte das subfamílias secretoras estruturais formadoras de gel sendo o principal produto das células caliciformes no cólon e no intestino delgado. A perda de mucina ocorre durante a mucosite e pode aumentar o dano à mucosa, diminuindo a proteção da barreira mucosa (Thorpe, 2019). A expressão gênica correspondente ao MUC2 foi notavelmente aumentada em animais com mucosite e grupos tratados com

ATV. Esses dados divergem daqueles relatados na literatura, em que a expressão de MUC2 foi reduzida na mucosite (De Jesus et al., 2019). Torpe e colaboradores avaliaram a expressão de MUC2 em um modelo de mucosite induzida por irinotecano e não observaram aumento da expressão gênica dessas proteínas em 120 horas. Os autores sugeriram que a rápida exocitose de mucinas pelas células caliciformes pode contribuir para uma diminuição nos níveis de MUC2. Com base nesta hipótese, acreditamos que o aumento na expressão de MUC2 em nosso modelo foi devido ao esgotamento dos estoques de mucina que pressionou a indução da expressão de MUC2 para manter níveis de mucina clinicamente viáveis (Thorpe et al., 2019), bem como a influência das citocinas pró-inflamatórias na regulação positiva da transcrição e tradução dos genes MUC2 (Bradbury et al., 2018). Outro fator que deve ser destacado é que a via RhoA/p35 regula altamente o MUC2, essa via é isoprenilada pelas estatinas trazendo portanto consequências na sua produção/liberação (Lora et al., 2005).

5. CONCLUSÃO

Em resumo, nossos resultados demonstram que a ATV é eficaz contra a mucosite intestinal induzida por 5-FU em camundongos. Os mecanismos potenciais para atenuar a resposta inflamatória incluem a proteção da barreira da mucosa intestinal e a redução da inflamação de maneira dose dependente. A ATV aumenta a expressão de ZO-1 e ocludina e suprime EPO, MPO e permeabilidade intestinal. A ATV inibiu a expressão de mediadores pró-inflamatórios mediados pelo bloqueio da ativação de TLR4/MyD88/NF- κ B, NLRP3, iNOS, IL6, IL1 β e TNF- α . Observou-se também que a ATV melhorou a arquitetura da mucosa do intestino delgado, atrasou a diarreia e apresentou atividade antiapoptótica e aumentou a expressão de MUC e o número de células caliciformes.

CONTRIBUIÇÕES

Contextualização: Kátia Duarte Vital, Flaviano Santos Martins; Valbert Nascimento Cardoso; Simone Odília Antunes Fernandes; **Metodologia:** Luiz Octavio Pires, Bruno Gallotti; Janayne Luihan Silva; Luís Cláudio Lima de Jesus; Ênio Ferreira; **Análise formal e investigação:** Kátia Duarte Vital, Luís Cláudio Lima de Jesus, Bruno Gallotti; Janayne Luihan Silva; Jacqueline Alvarez-Leite **Preparo e escrita do paper:** Kátia Duarte Vital; **Revisão e edição:** Simone Odília Antunes Fernandes, Valbert Nascimento Cardoso, Enio Ferreira, Flaviano Santos Martins, Jacqueline Alvarez-Leite and Vasco Azevedo; **Supervisão:** Simone Odília Antunes Fernandes; **Financiamento:** Simone Odília Antunes Fernandes, Valbert Nascimento Cardoso, Flaviano Santos Martins, and Vasco Azevedo.

*Todos os autores aprovaram o manuscrito final.

Financiamento: Os autores agradecem a Pró-Reitoria de Pesquisa - Universidade Federal de Minas Gerais, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Simone Odília Antunes Fernandes foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Minas Gerais Network for Pesquisa Translacional em Imunobiológicos e Biofarmacêuticos no Câncer - REMITRIBIC, RED-00031-21, APQ-00056-18, e APQ-00593-14). Kátia Duarte Vital agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não ter conflitos e interesse.

Consentimento para a publicação: Todos os autores estão coniventes com a publicação deste artigo.

Disponibilidade de dados: Os dados do estudo atual estão disponíveis no autor correspondente mediante solicitação.

Aprovação Ética: O estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pelo Comitê Local de Ética Experimental Animal (CEUA-UFMG) (Protocolo nº 266/2019).

REFERENCIAS

1. Abe, Y., Murano, M., Murano, N., Morita, E., Inoue, T., Kawakami, K., Ishida, K., Kuramoto, T., Kakimoto, K., Okada, T., Narabayashi, K., Umegaki, E., & Higuchi, K. (2012a). Simvastatin attenuates intestinal fibrosis independent of the anti-inflammatory effect by promoting fibroblast/myofibroblast apoptosis in the regeneration/healing process from TNBS-induced colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(2), 335–344. <https://doi.org/10.1007/s10620-011-1879-4>
2. Abe, Y., Murano, M., Murano, N., Morita, E., Inoue, T., Kawakami, K., Ishida, K., Kuramoto, T., Kakimoto, K., Okada, T., Narabayashi, K., Umegaki, E., & Higuchi, K. (2012b). Simvastatin Attenuates Intestinal Fibrosis Independent of the Anti-Inflammatory Effect by Promoting Fibroblast/Myofibroblast Apoptosis in the Regeneration/Healing Process from TNBS-Induced Colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(2), 335–344. <https://doi.org/10.1007/s10620-011-1879-4>
3. Abeesh, P., & Guruvayoorappan, C. (2023). NF- κ B as a Potential Target for the Treatment and Prevention of Mucositis. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 24(13), 1613–1622. <https://doi.org/10.2174/1389201024666230331121328>
4. Abou-Zeid, N. R. A. (2014). Ameliorative effect of vitamin C against 5-fluorouracil-induced hepatotoxicity in mice: A light and electron microscope study. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 67(4), 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2013.12.004>
5. Akbarali, H. I., Muchhala, K. H., Jessup, D. K., & Cheatham, S. (2022). *Chemotherapy induced gastrointestinal toxicities* (pp. 131–166). <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2022.02.007>
6. Aktunc, E., Kayhan, B., Arasli, M., Gun, B. D., & Barut, F. (2011a). The effect of atorvastatin and its role on systemic cytokine network in treatment of acute experimental colitis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33(4), 667–675. <https://doi.org/10.3109/08923973.2011.559475>
7. Aktunc, E., Kayhan, B., Arasli, M., Gun, B. D., & Barut, F. (2011b). The effect of atorvastatin and its role on systemic cytokine network in treatment of acute experimental colitis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33(4), 667–675. <https://doi.org/10.3109/08923973.2011.559475>

8. Al-Ansari, S., Zecha, J. A. E. M., Barasch, A., de Lange, J., Rozema, F. R., & Raber-Durlacher, J. E. (2015). Oral Mucositis Induced By Anticancer Therapies. *Current Oral Health Reports*, 2(4), 202–211. <https://doi.org/10.1007/s40496-015-0069-4>
9. Al-Dasooqi, N., Sonis, S. T., Bowen, J. M., Bateman, E., Blijlevens, N., Gibson, R. J., Logan, R. M., Nair, R. G., Stringer, A. M., Yazbeck, R., Elad, S., & Lalla, R. V. (2013). Emerging evidence on the pathobiology of mucositis. *Supportive Care in Cancer*, 21(7), 2075–2083. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1810-y>
10. Almog, Y., Shefer, A., Novack, V., Maimon, N., Barski, L., Eizinger, M., Friger, M., Zeller, L., & Danon, A. (2004). Prior Statin Therapy Is Associated With a Decreased Rate of Severe Sepsis. *Circulation*, 110(7), 880–885. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138932.17956.F1>
11. Amirfakhrian, H., Abedi, S. M., Sadeghi, H., Azizi, S., & Hosseinimehr, S. J. (2018). The use of ^{99m}Tc-phytate for assessment the protective effect of vitamin E against hepatotoxicity induced by methotrexat in rat. *Nuclear Medicine Review*, 21(1), 8–13. <https://doi.org/10.5603/NMR.a2018.0006>
12. Andrade, M. E. R., Trindade, L. M., Leocádio, P. C. L., Leite, J. I. A., dos Reis, D. C., Cassali, G. D., da Silva, T. F., de Oliveira Carvalho, R. D., de Carvalho Azevedo, V. A., Cavalcante, G. G., de Oliveira, J. S., Fernandes, S. O. A., Generoso, S. V., & Cardoso, V. N. (2023). Association of Fructo-oligosaccharides and Arginine Improves Severity of Mucositis and Modulate the Intestinal Microbiota. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15(2), 424–440. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-10032-8>
13. Andreou, I., Tousoulis, D., Miliou, A., Tentolouris, C., Zisimos, K., Gounari, P., Siasos, G., Papageorgiou, N., Papadimitriou, C. A., Dimopoulos, M. A., & Stefanadis, C. (2010). Effects of rosuvastatin on myeloperoxidase levels in patients with chronic heart failure: A randomized placebo-controlled study. *Atherosclerosis*, 210(1), 194–198. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2009.10.046>
14. Andreyev, J., Ross, P., Donnellan, C., Lennan, E., Leonard, P., Waters, C., Wedlake, L., Bridgewater, J., Glynne-Jones, R., Allum, W., Chau, I., Wilson, R., & Ferry, D. (2014). Guidance on the management of diarrhoea during cancer chemotherapy. *The Lancet Oncology*, 15(10), e447–e460. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70006-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70006-3)

15. Armando, R. G., Gómez, D. L. M., & Gomez, D. E. (2020). New drugs are not enough-drug repositioning in oncology: An update. *International Journal of Oncology*, 56(3), 651–684. <https://doi.org/10.3892/IJO.2020.4966/HTML>
16. Armitage, J. (2007). The safety of statins in clinical practice. *The Lancet*, 370(9601), 1781–1790. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60716-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60716-8)
17. Ashburn, T. T., & Thor, K. B. (2004a). Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(8), 673–683. <https://doi.org/10.1038/nrd1468>
18. Ashburn, T. T., & Thor, K. B. (2004b). Drug repositioning: Identifying and developing new uses for existing drugs. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 3, Issue 8, pp. 673–683). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd1468>
19. Bahrami, A., Bo, S., Jamialahmadi, T., & Sahebkar, A. (2020). Effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on ageing: Molecular mechanisms. *Ageing Research Reviews*, 58, 101024. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101024>
20. Barroso, F. A. L., Jesus, L. C. L. de, Castro, C. P. de, Batista, V. L., Ferreira, Ê., Fernandes, R. S., Barros, A. L. B. de, Leclerq, S. Y., Azevedo, V., Mancha-Agresti, P., & Drumond, M. M. (2021). Intake of *Lactobacillus delbrueckii* (pExu:hsp65) Prevents the Inflammation and the Disorganization of the Intestinal Mucosa in a Mouse Model of Mucositis. *Microorganisms* 2021, Vol. 9, Page 107, 9(1), 107. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9010107>
21. Batista, V. L., De Jesus, L. C. L., Tavares, L. M., Barroso, F. L. A., Fernandes, L. J. da S., Freitas, A. dos S., Americo, M. F., Drumond, M. M., Mancha-Agresti, P., Ferreira, E., Laguna, J. G., Alcantara, L. C. J., & Azevedo, V. (2022). Paraprobiotics and Postbiotics of *Lactobacillus delbrueckii* CIDCA 133 Mitigate 5-FU-Induced Intestinal Inflammation. *Microorganisms*, 10(7), 1418. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071418>
22. Bedi, O., Dhawan, V., Sharma, P. L., & Kumar, P. (2016). Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 389(7), 695–712. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1252-4>
23. Beltowski, J. (2005). Statins and modulation of oxidative stress. In *Toxicology Mechanisms and Methods* (Vol. 15, Issue 2, pp. 61–92). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1080/15376520590918766>

24. Bertolini, F., Sukhatme, V. P., & Bouche, G. (2015). Drug repurposing in oncology—patient and health systems opportunities. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2015, 12:12, 12(12), 732–742. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.169>
25. Björnsson, E., Jacobsen, E. I., & Kalaitzakis, E. (2012). Hepatotoxicity associated with statins: Reports of idiosyncratic liver injury post-marketing. *Journal of Hepatology*, 56(2), 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.07.023>
26. Boccardi, V., Barbieri, M., Rizzo, M. R., Marfella, R., Esposito, A., Marano, L., & Paolisso, G. (2013). A new pleiotropic effect of statins in elderly: modulation of telomerase activity. *The FASEB Journal*, 27(9), 3879–3885. <https://doi.org/10.1096/fj.13-232066>
27. Bolego, C., Baetta, R., Bellosta, S., Corsini, A., & Paoletti, R. (2002). Safety considerations for statins. *Current Opinion in Lipidology*, 13(6), 637–644. <https://doi.org/10.1097/00041433-200212000-00007>
28. Bradbury, P., Traini, D., Ammit, A. J., Young, P. M., & Ong, H. X. (2018). Repurposing of statins via inhalation to treat lung inflammatory conditions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 133, 93–106. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.06.005>
29. Brianna, & Lee, S. H. (2023). Chemotherapy: how to reduce its adverse effects while maintaining the potency? *Medical Oncology*, 40(3), 88. <https://doi.org/10.1007/s12032-023-01954-6>
30. Brown, W. V. (2008). Safety of statins. *Current Opinion in Lipidology*, 19(6), 558–562. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328319baba>
31. Bu, D., Griffin, G., & Lichtman, A. H. (2011). Mechanisms for the anti-inflammatory effects of statins. *Current Opinion in Lipidology*, 22(3), 165–170. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283453e41>
32. Çakmak, S., & Nural, N. (2019). Incidence of and risk factors for development of oral mucositis in outpatients undergoing cancer chemotherapy. *International Journal of Nursing Practice*, 25(1). <https://doi.org/10.1111/ijn.12710>
33. Campos, M. I., Wellington Dorigheto Andrade Vieira, Celso Neiva Campos, Fernando Monteiro Aarestrup, & Beatriz Julião Vieira Aarestrup. (2015). Atorvastatin and trans-caryophyllene for the prevention of leukopenia in an experimental chemotherapy model in Wistar rats. *Mol Clin Oncol.*, 3(4), 825–828.

34. Capaldo, C. T., Powell, D. N., & Kalman, D. (2017). Layered defense: how mucus and tight junctions seal the intestinal barrier. *Journal of Molecular Medicine*, 95(9), 927–934. <https://doi.org/10.1007/S00109-017-1557-X/FIGURES/1>
35. Carvalho, P. L. A., Andrade, M. E. R., Trindade, L. M., Leocádio, P. C. L., Alvarez-Leite, J. I., dos Reis, D. C., Cassali, G. D., Souza e Melo, É. L. de S., dos Santos Martins, F., Fernandes, S. O. A., Gouveia Peluzio, M. do C., Generoso, S. de V., & Cardoso, V. N. (2021). Prophylactic and therapeutic supplementation using fructo-oligosaccharide improves the intestinal homeostasis after mucositis induced by 5- fluorouracil. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 111012. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2020.111012>
36. Chang, C. W., Lee, H. C., Li, L. H., Chiau, J. S. C., Wang, T. E., Chuang, W. H., Chen, M. J., Wang, H. Y., Shih, S. C., Liu, C. Y., Tsai, T. H., & Chen, Y. J. (2020). Fecal Microbiota Transplantation Prevents Intestinal Injury, Upregulation of Toll-Like Receptors, and 5-Fluorouracil/Oxaliplatin-Induced Toxicity in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 386, 21(2), 386. <https://doi.org/10.3390/IJMS21020386>
37. Chaveli-Lopez, B., & Bagan-Sebastian, J. (2016). Treatment of oral mucositis due to chemotherapy. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 0–0. <https://doi.org/10.4317/jced.52917>
38. Cho, J. H., Kim, E. J., Kim, E. K., Park, D. K., Kwon, K. A., Chung, J. W., Kim, K. O., & Kim, Y. J. (2017). Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of rosuvastatin by regulation of oxidative stress in a dextran sulfate sodium-induced colitis model. *World Journal of Gastroenterology*, 23(25), 4559–4568. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i25.4559>
39. Cho, S. J., Joo, S. K., Jung, M. K., Jong, Y. L., Hyun, C. J., & In, S. S. (2008). Simvastatin induces apoptosis in human colon cancer cells and in tumor xenografts, and attenuates colitis-associated colon cancer in mice. *International Journal of Cancer*, 123(4), 951–957. <https://doi.org/10.1002/ijc.23593>
40. Cinausero, M., Aprile, G., Ermacora, P., Basile, D., Vitale, M. G., Fanotto, V., Parisi, G., Calvetti, L., & Sonis, S. T. (2017a). New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00354>
41. Cinausero, M., Aprile, G., Ermacora, P., Basile, D., Vitale, M. G., Fanotto, V., Parisi, G., Calvetti, L., & Sonis, S. T. (2017b). New frontiers in the pathobiology

- and treatment of cancer regimen-related mucosal injury. *Frontiers in Pharmacology*, 8(JUN), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00354>
42. Cohen, D. E., Anania, F. A., & Chalasani, N. (2006). An Assessment of Statin Safety by Hepatologists. *The American Journal of Cardiology*, 97(8), S77–S81. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.12.014>
43. Corthésy, B. (2013). Role of secretory IgA in infection and maintenance of homeostasis. In *Autoimmunity Reviews* (Vol. 12, Issue 6, pp. 661–665). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.10.012>
44. Côté-Daigneault, J., Mehandru, S., Ungaro, R., Atreja, A., & Colombel, J.-F. (2016). Potential Immunomodulatory Effects of Statins in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(3), 724–732. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000640>
45. Coutinho, J. O. P. A., Quintanilha, M. F., Campos, M. R. A., Ferreira, E., de Menezes, G. C. A., Rosa, L. H., Rosa, C. A., Vital, K. D., Fernandes, S. O. A., Cardoso, V. N., Nicoli, J. R., Tiago, F. C. P., & Martins, F. S. (2021). Antarctic Strain of *Rhodotorula mucilaginosa* UFMGCB 18,377 Attenuates Mucositis Induced by 5-Fluorouracil in Mice. *Probiotics and Antimicrobial Proteins 2021*, 1, 1–15. <https://doi.org/10.1007/S12602-021-09817-0>
46. Cremolini, C., Schirripa, M., Antoniotti, C., Moretto, R., Salvatore, L., Masi, G., Falcone, A., & Loupakis, F. (2015). First-line chemotherapy for mCRC—a review and evidence-based algorithm. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 12(10), 607–619. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.129>
47. Dahlgren, D., Sjöblom, M., Hellström, P. M., & Lennernäs, H. (2021). Chemotherapeutics-Induced Intestinal Mucositis: Pathophysiology and Potential Treatment Strategies. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.681417>
48. de Barros, P. A. V., Rabelo Andrade, M. E., de Vasconcelos Generoso, S., Mendes Miranda, S. E., dos Reis, D. C., Lacerda Leocádio, P. C., de Sales e Souza, É. L., dos Santos Martins, F., da Gama, M. A. S., Cassali, G. D., Alvarez Leite, J. I., Antunes Fernandes, S. O., & Cardoso, V. N. (2018). Conjugated linoleic acid prevents damage caused by intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in an experimental model. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 103, 1567–1576. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.133>

49. De Jesus, L. C. L., Drumond, M. M., de Carvalho, A., Santos, S. S., Martins, F. S., Ferreira, Ê., Fernandes, R. S., de Barros, A. L. B., do Carmo, F. L. R., Perez, P. F., Azevedo, V., & Mancha-Agresti, P. (2019a). Protective effect of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis* CIDCA 133 in a model of 5-Fluorouracil-Induced intestinal mucositis. *Journal of Functional Foods*, *53*, 197–207. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.12.027>
50. De Jesus, L. C. L., Drumond, M. M., de Carvalho, A., Santos, S. S., Martins, F. S., Ferreira, Ê., Fernandes, R. S., de Barros, A. L. B., do Carmo, F. L. R., Perez, P. F., Azevedo, V., & Mancha-Agresti, P. (2019b). Protective effect of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis* CIDCA 133 in a model of 5-Fluorouracil-Induced intestinal mucositis. *Journal of Functional Foods*, *53*, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.027>
51. Du, K., Wang, L., Wang, Z., Xiao, H., Hou, J., Hu, L., Fan, N., & Wang, Y. (2023). Angelica Sinensis polysaccharide antagonizes 5-Fluorouracil-induced spleen injury and dysfunction by suppressing oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *162*, 114602. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114602>
52. Eichhorst, S. T., Mürköster, S., Weigand, M. A., & Krammer, P. H. (2001). The chemotherapeutic drug 5-fluorouracil induces apoptosis in mouse thymocytes in vivo via activation of the CD95(APO-1/Fas) system. *Cancer Research*, *61*(1), 243–248.
53. Elad, S., Cheng, K. K. F., Lalla, R. V., Yarom, N., Hong, C., Logan, R. M., Bowen, J., Gibson, R., Saunders, D. P., Zadik, Y., Ariyawardana, A., Correa, M. E., Ranna, V., Bossi, P., Arany, P., Al-Azri, A. R., Blijlevens, N., Hovan, A., Fregnani, E., ... Zur, E. (2020). MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer*, *126*(19), 4423–4431. <https://doi.org/10.1002/cncr.33100>
54. Elad, S., Yarom, N., Zadik, Y., Kuten-Shorrer, M., & Sonis, S. T. (2022). The broadening scope of oral mucositis and oral ulcerative mucosal toxicities of anticancer therapies. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *72*(1), 57–77. <https://doi.org/10.3322/caac.21704>
55. Elkatory, R., Abdelrahman, K., Hassanin, A., Elmasry, A., & Elkaref, A. (2015). Comparative Study between Effect of Simvastatin (5 mg/Kg) and Simvastatin (50 mg/Kg) in an Early Treatment of Experimentally Induced Colitis in Mice. *British*

- Journal of Medicine and Medical Research*, 8(11), 937–947.
<https://doi.org/10.9734/bjmmr/2015/18314>
56. El-Mahdy, N. A., El-Sayad, M. E., El-Kadem, A. H., & Abu-Risha, S. E. (2020). Targeting IL-10, ZO-1 gene expression and IL-6/STAT-3 trans-signaling by a combination of atorvastatin and mesalazine to enhance anti-inflammatory effects and attenuates progression of oxazolone-induced colitis. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, fcp.12563. <https://doi.org/10.1111/fcp.12563>
57. El-Mahdy, N. A., El-Sayad, M. E., El-Kadem, A. H., & Abu-Risha, S. E. (2021a). Targeting IL-10, ZO-1 gene expression and IL-6/STAT-3 trans-signaling by a combination of atorvastatin and mesalazine to enhance anti-inflammatory effects and attenuates progression of oxazolone-induced colitis. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 35(1), 143–155. <https://doi.org/10.1111/fcp.12563>
58. El-Mahdy, N. A., El-Sayad, M. E., El-Kadem, A. H., & Abu-Risha, S. E. (2021b). Targeting IL-10, ZO-1 gene expression and IL-6/STAT-3 trans-signaling by a combination of atorvastatin and mesalazine to enhance anti-inflammatory effects and attenuates progression of oxazolone-induced colitis. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 35(1), 143–155. <https://doi.org/10.1111/fcp.12563>
59. El-Moselhy, M. A., & El-Sheikh, A. A. K. (2014). Protective mechanisms of atorvastatin against doxorubicin-induced hepato-renal toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 68(1), 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2013.09.001>
60. Ewing, T., van Noord, A., Paul, C., & van Berkel, W. (2018). A Xylenol Orange-Based Screening Assay for the Substrate Specificity of Flavin-Dependent para-Phenol Oxidases. *Molecules*, 23(1), 164. <https://doi.org/10.3390/molecules23010164>
61. Ferreira, A. S., Macedo, C., Silva, A. M., Delerue-Matos, C., Costa, P., & Rodrigues, F. (2022). Natural Products for the Prevention and Treatment of Oral Mucositis—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4385. <https://doi.org/10.3390/ijms23084385>
62. Ferreira, T. M., Leonel, A. J., Melo, M. A., Santos, R. R. G., Car, D. C., Cardoso, V. N., & Alvarez-Leite, J. I. (2012). Oral Supplementation of Butyrate Reduces Mucositis and Intestinal Permeability Associated with 5-Fluorouracil Administration. *Lipids*, 47(7), 669–678. <https://doi.org/10.1007/S11745-012-3680-3>

63. Fessler, M. B., & Parks, J. S. (2011). Intracellular Lipid Flux and Membrane Microdomains as Organizing Principles in Inflammatory Cell Signaling. *The Journal of Immunology*, *187*(4), 1529–1535. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100253>
64. Galdino, F. M. P., Andrade, M. E. R., Barros, P. A. V. de, Generoso, S. de V., Alvarez-Leite, J. I., Almeida-Leite, C. M. de, Peluzio, M. do C. G., Fernandes, S. O. A., & Cardoso, V. N. (2018a). Pretreatment and treatment with fructooligosaccharides attenuate intestinal mucositis induced by 5-FU in mice. *Journal of Functional Foods*, *49*, 485–492. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.012>
65. Galdino, F. M. P., Andrade, M. E. R., Barros, P. A. V. de, Generoso, S. de V., Alvarez-Leite, J. I., Almeida-Leite, C. M. de, Peluzio, M. do C. G., Fernandes, S. O. A., & Cardoso, V. N. (2018b). Pretreatment and treatment with fructooligosaccharides attenuate intestinal mucositis induced by 5-FU in mice. *Journal of Functional Foods*, *49*, 485–492. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.09.012>
66. Gelen, V., Şengül, E., Gedikli, S., Atila, G., Uslu, H., & Makav, M. (2017). The protective effect of rutin and quercetin on 5-FU-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *7*(7), 647–653. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.013>
67. Gelen, V., Şengül, E., Yıldırım, S., & Atila, G. (2018). The protective effects of naringin against 5-fluorouracil-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *21*(4), 404–410. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.27510.6714>
68. Gelen, V., Şengül, E., Yıldırım, S., Senturk, E., Tekin, S., & Kükürt, A. (2021). The protective effects of hesperidin and curcumin on 5-fluorouracil-induced nephrotoxicity in mice. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(34), 47046–47055. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13969-5>
69. Gelissen, I. C., & McLachlan, A. J. (2014). The pharmacogenomics of statins. *Pharmacological Research*, *88*, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.12.002>
70. German, C. A., & Liao, J. K. (2023). Understanding the molecular mechanisms of statin pleiotropic effects. *Archives of Toxicology*, *97*(6), 1529–1545. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03492-6>
71. Ghafouri-Fard, S., Abak, A., Tondro Anamag, F., Shoorei, H., Fattahi, F., Javadinia, S. A., Basiri, A., & Taheri, M. (2021). 5-Fluorouracil: A Narrative

- Review on the Role of Regulatory Mechanisms in Driving Resistance to This Chemotherapeutic Agent. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.658636>
72. Giulietti, A., Overbergh, L., Valckx, D., Decallonne, B., Bouillon, R., & Mathieu, C. (2001). An Overview of Real-Time Quantitative PCR: Applications to Quantify Cytokine Gene Expression. *Methods*, 25(4), 386–401. <https://doi.org/10.1006/METH.2001.1261>
73. Gomes-Santos, A. C., Oliveira, R. P. de, Moreira, T. G., Castro-Junior, A. B., Horta, B. C., Lemos, L., Almeida, L. A. de, Rezende, R. M., Cara, D. C., Oliveira, S. C., Azevedo, V. A. C., Miyoshi, A., & Faria, A. M. C. (2017). Hsp65-Producing *Lactococcus lactis* Prevents Inflammatory Intestinal Disease in Mice by IL-10- and TLR2-Dependent Pathways. *Frontiers in Immunology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00030>
74. Grip, O., & Janciauskiene, S. (2009). Atorvastatin Reduces Plasma Levels of Chemokine (CXCL10) in Patients with Crohn's Disease. *PLoS ONE*, 4(5), e5263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005263>
75. Guan, Z., Wu, K., Li, R., Yin, Y., Li, X., Zhang, S., & Li, Y. (2019). Pharmacogenetics of statins treatment: Efficacy and safety. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 44(6), 858–867. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13025>
76. Gustavsson, B., Carlsson, G., Machover, D., Petrelli, N., Roth, A., Schmoll, H.-J., Tveit, K.-M., & Gibson, F. (2015). A Review of the Evolution of Systemic Chemotherapy in the Management of Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*, 14(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2014.11.002>
77. Hua, Y., Dai, X., Xu, Y., Xing, G., Liu, H., Lu, T., Chen, Y., & Zhang, Y. (2022). Drug repositioning: Progress and challenges in drug discovery for various diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 234, 114239. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114239>
78. Huang, J., Hwang, A. Y. M., Jia, Y., Kim, B., Iskandar, M., Mohammed, A. I., & Cirillo, N. (2022). Experimental Chemotherapy-Induced Mucositis: A Scoping Review Guiding the Design of Suitable Preclinical Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 15434. <https://doi.org/10.3390/ijms232315434>
79. Huang, T. Y., Chu, H. C., Lin, Y. L., Ho, W. H., Hou, H. S., Chao, Y. C., & Liao, C. L. (2009). Minocycline attenuates 5-fluorouracil-induced small intestinal

- mucositis in mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 389(4), 634–639. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.09.041>
80. Ikeda, M., Takeshima, F., Isomoto, H., Shikuwa, S., Mizuta, Y., Ozono, Y., & Kohno, S. (2008). Simvastatin attenuates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, but not oxazalone-induced colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 53(7), 1869–1875. <https://doi.org/10.1007/s10620-007-0102-0>
81. Jahovic, N., Gedik, N., Ercan, F., Şirvanci, S., Yüksel, M., Şener, G., & Alican, I. (2006). Effects of statins on experimental colitis in normocholesterolemic rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 41(8), 954–962. <https://doi.org/10.1080/00365520600554444>
82. Jaikumkao, K., Pongchaidecha, A., Thongnak, L., Wanchai, K., Arjinajarn, P., Chatsudthipong, V., Chattipakorn, N., & Lungkaphin, A. (2016). Amelioration of Renal Inflammation, Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis Underlies the Protective Effect of Low Dosage of Atorvastatin in Gentamicin-Induced Nephrotoxicity. *PLOS ONE*, 11(10), e0164528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164528>
83. Jehn, P., Stier, R., Tavassol, F., Dittmann, J., Zimmerer, R., Gellrich, N.-C., Krüskemper, G., & Spalthoff, S. (2019). Physical and Psychological Impairments Associated with Mucositis after Oral Cancer Treatment and Their Impact on Quality of Life. *Oncology Research and Treatment*, 42(6), 342–349. <https://doi.org/10.1159/000499720>
84. Jourdan, J.-P., Bureau, R., Rochais, C., & Dallemagne, P. (2020). Drug repositioning: a brief overview. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(9), 1145–1151. <https://doi.org/10.1111/jphp.13273>
85. Kanagarajan, N., Nam, J. H., Al Noah, Z., & Murthy, S. (2008). Disease modifying effect of statins in dextran sulfate sodium model of mouse colitis. *Inflammation Research*, 57(1), 34–38. <https://doi.org/10.1007/s00011-007-6177-4>
86. Katzung, B., & Trevor, A. (2017). *Farmacologia Básica e Clínica-13*. [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=rsw-DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Katzung,+B.+G.,+%26+Trevor,+A.+J.+\(2017\).+Farmacologia+B%C3%A1sica+e+Cl%C3%ADnica-13.+McGraw+Hill+Brasil.&ots=WN9ueKT-o0&sig=swMSK4fuRS_w0kLyWcn0pj1PLoY](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=rsw-DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Katzung,+B.+G.,+%26+Trevor,+A.+J.+(2017).+Farmacologia+B%C3%A1sica+e+Cl%C3%ADnica-13.+McGraw+Hill+Brasil.&ots=WN9ueKT-o0&sig=swMSK4fuRS_w0kLyWcn0pj1PLoY)

87. Kavalipati, N., Shah, J., Ramakrishan, A., & Vasnawala, H. (2015a). Pleiotropic effects of statins. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *19*(5), 554. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.163106>
88. Kavalipati, N., Shah, J., Ramakrishan, A., & Vasnawala, H. (2015b). Pleiotropic effects of statins. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *19*(5), 554–562. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.163106>
89. Keefe, D. M., Sonis, S. T., & Bowen, J. M. (2008). Emerging drugs for chemotherapy-induced mucositis. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, *13*(3), 511–522. <https://doi.org/10.1517/14728214.13.3.511>
90. Khan, T. J., Ahmed, Y. M., Zamzami, M. A., Mohamed, S. A., Khan, I., Baothman, O. A. S., Mehanna, M. G., & Yasir, M. (2018). Effect of atorvastatin on the gut microbiota of high fat diet-induced hypercholesterolemic rats. *Scientific Reports*, *8*(1), 662. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-19013-2>
91. Kirtonia, A., Gala, K., Fernandes, S. G., Pandya, G., Pandey, A. K., Sethi, G., Khattar, E., & Garg, M. (2021). Repurposing of drugs: An attractive pharmacological strategy for cancer therapeutics. *Seminars in Cancer Biology*, *68*, 258–278. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2020.04.006>
92. Kitzmiller, J., Mikulik, E., Dauki, A., Mukherjee, C., & Luzum, J. (2016). Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine, Volume 9*, 97–106. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S86013>
93. Kobayashi, Y., Banno, K., Kunitomi, H., Nagai, S., Takahashi, T., Anko, M., Iijima, M., Takeda, T., Matoba, Y., Nakamura, K., Tsuji, K., Tominaga, E., & Aoki, D. (2019). Is antidyslipidemic statin use for cancer prevention a promising drug repositioning approach? *European Journal of Cancer Prevention*, *28*(6), 562–567. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000497>
94. Kojima, S., Takaba, K., Kimoto, N., Takeda, T., Kakuni, M., Mizutani, M., Suzuki, K., Sato, H., & Hara, T. (2003). Protective effects of glutathione on 5-fluorouracil-induced myelosuppression in mice. *Archives of Toxicology*, *77*(5), 285–290. <https://doi.org/10.1007/s00204-003-0448-9>
95. Kong, F., Ye, B., Lin, L., Cai, X., Huang, W., & Huang, Z. (2016). Atorvastatin suppresses NLRP3 inflammasome activation via TLR4/MyD88/NF-κB signaling in PMA-stimulated THP-1 monocytes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *82*, 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.043>

96. Kong, Y., Cao, X.-N., Zhang, X.-H., Shi, M.-M., Lai, Y.-Y., Wang, Y., Xu, L.-P., Chang, Y.-J., & Huang, X.-J. (2018). Atorvastatin enhances bone marrow endothelial cell function in corticosteroid-resistant immune thrombocytopenia patients. *Blood*, *131*(11), 1219–1233. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-807248>
97. Kostler, W. J., Hejna, M., Wenzel, C., & Zielinski, C. C. (2001). Oral Mucositis Complicating Chemotherapy and/or Radiotherapy: Options for Prevention and Treatment. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *51*(5), 290–315. <https://doi.org/10.3322/canjclin.51.5.290>
98. Kotamraju, S., Willams, C. L., & Kalyanaraman, B. (2007). Statin-Induced Breast Cancer Cell Death: Role of Inducible Nitric Oxide and Arginase-Dependent Pathways. *Cancer Research*, *67*(15), 7386–7394. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0993>
99. Kuderer, N. M., Desai, A., Lustberg, M. B., & Lyman, G. H. (2022). Mitigating acute chemotherapy-associated adverse events in patients with cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, *19*(11), 681–697. <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00685-3>
100. Kumar, A. P., & Reynolds, W. F. (2005). Statins downregulate myeloperoxidase gene expression in macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *331*(2), 442–451. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.204>
101. Kurita, A., Kado, S., Kaneda, N., Onoue, M., Hashimoto, S., & Yokokura, T. (2000). Modified irinotecan hydrochloride (CPT-11) administration schedule improves induction of delayed-onset diarrhea in rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *46*(3), 211–220. <https://doi.org/10.1007/s002800000151>
102. Labbe, G., Pessayre, D., & Fromenty, B. (2008). Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, *22*(4), 335–353. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2008.00608.x>
103. Lalla, R. V., Saunders, D. P., & Peterson, D. E. (2014). Chemotherapy or Radiation-Induced Oral Mucositis. *Dental Clinics of North America*, *58*(2), 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2013.12.005>
104. Lee, C. S., Ryan, E. J., & Doherty, G. A. (2014). Gastro-intestinal toxicity of chemotherapeutics in colorectal cancer: The role of inflammation. *World*

- Journal of Gastroenterology*, 20(14), 3751–3761.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i14.3751>
105. Lee, J. Y., Kim, J. S., Kim, J. M., Kim, N., Jung, H. C., & Song, I. S. (2007). Simvastatin inhibits NF- κ B signaling in intestinal epithelial cells and ameliorates acute murine colitis. *International Immunopharmacology*, 7(2), 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.10.013>
106. Lei, A., Yang, Q., Li, X., Chen, H., Shi, M., Xiao, Q., Cao, Y., He, Y., & Zhou, J. (2016). Atorvastatin promotes the expansion of myeloid-derived suppressor cells and attenuates murine colitis. *Immunology*, 149(4), 432–446. <https://doi.org/10.1111/imm.12662>
107. Leocádio, P. C. L., Antunes, M. M., Teixeira, L. G., Leonel, A. J., Alvarez-Leite, J. I., Machado, D. C. C., Generoso, S. V., Cardoso, V. N., & Correia, M. I. T. D. (2015). L-arginine pretreatment reduces intestinal mucositis as induced by 5-FU in mice. *Nutrition and Cancer*, 67(3), 486–493. <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1004730>
108. Leung, T., Chen, X. Q., Manser, E., & Lim, L. (1996). The p160 RhoA-binding kinase ROK alpha is a member of a kinase family and is involved in the reorganization of the cytoskeleton. *Molecular and Cellular Biology*, 16(10), 5313–5327. <https://doi.org/10.1128/mcb.16.10.5313>
109. Li, H. L., Lu, L., Wang, X. S., Qin, L. Y., Wang, P., Qiu, S. P., Wu, H., Huang, F., Zhang, B. B., Shi, H. L., & Wu, X. J. (2017). Alteration of gut microbiota and inflammatory cytokine/chemokine profiles in 5-fluorouracil induced intestinal mucositis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(OCT), 455. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00455/BIBTEX>
110. Li, M. O., Wan, Y. Y., Sanjabi, S., Robertson, A.-K. L., & Flavell, R. A. (2006). TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β REGULATION OF IMMUNE RESPONSES. *Annual Review of Immunology*, 24(1), 99–146. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737>
111. Liang, G. H., & Weber, C. R. (2014). Molecular aspects of tight junction barrier function. *Current Opinion in Pharmacology*, 19, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.07.017>
112. Liao, J. K., & Laufs, U. (2005a). PLEIOTROPIC EFFECTS OF STATINS. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1), 89–118. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095748>

113. Liao, J. K., & Laufs, U. (2005b). PLEIOTROPIC EFFECTS OF STATINS. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1), 89–118. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095748>
114. Liou, C.-J., Cheng, P.-Y., Huang, W.-C., Chan, C.-C., Chen, M.-C., Kuo, M.-L., & Shen, J.-J. (2014). Oral Lovastatin Attenuates Airway Inflammation and Mucus Secretion in Ovalbumin-Induced Murine Model of Asthma. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 6(6), 548–557. <https://doi.org/10.4168/AAIR.2014.6.6.548>
115. Liu, A., Wu, Q., Guo, J., Ares, I., Rodríguez, J.-L., Martínez-Larrañaga, M.-R., Yuan, Z., Anadón, A., Wang, X., & Martínez, M.-A. (2019). Statins: Adverse reactions, oxidative stress and metabolic interactions. *Pharmacology & Therapeutics*, 195, 54–84. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.10.004>
116. Logan, R. M., Stringer, A. M., Bowen, J. M., Gibson, R. J., Sonis, S. T., & Keefe, D. M. K. (2008). Is the pathobiology of chemotherapy-induced alimentary tract mucositis influenced by the type of mucotoxic drug administered? *Cancer Chemotherapy and Pharmacology 2008* 63:2, 63(2), 239–251. <https://doi.org/10.1007/S00280-008-0732-8>
117. Logan, R. M., Stringer, A. M., Bowen, J. M., Yeoh, A. S.-J., Gibson, R. J., Sonis, S. T., & Keefe, D. M. K. (2007). The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: Pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5), 448–460. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2007.03.001>
118. Longley, D. B., Harkin, D. P., & Johnston, P. G. (2003). 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), 330–338. <https://doi.org/10.1038/nrc1074>
119. Lora, J. M., Zhang, D. M., Liao, S. M., Burwell, T., King, A. M., Barker, P. A., Singh, L., Keaveney, M., Morgenstern, J., Gutiérrez-Ramos, J. C., Coyle, A. J., & Fraser, C. C. (2005). Tumor Necrosis Factor- α Triggers Mucus Production in Airway Epithelium through an I κ B Kinase β -dependent Mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 280(43), 36510–36517. <https://doi.org/10.1074/jbc.M507977200>
120. Lotfi Shahreza, M., Ghadiri, N., Mousavi, S. R., Varshosaz, J., & Green, J. R. (2018). A review of network-based approaches to drug repositioning. *Briefings in Bioinformatics*, 19(5), 878–892. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx017>

121. Macin, S. M., Perna, E. R., Fariás, E. F., Franciosi, V., Cialzeta, J. R., Brizuela, M., Medina, F., Tajer, C., Doval, H., & Badaracco, R. (2005). Atorvastatin has an important acute anti-inflammatory effect in patients with acute coronary syndrome: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *American Heart Journal*, *149*(3), 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2004.07.041>
122. Maeda, T., Miyazono, Y., Ito, K., Hamada, K., Sekine, S., & Horie, T. (2009). Oxidative stress and enhanced paracellular permeability in the small intestine of methotrexate-treated rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* *2009* *65*:6, *65*(6), 1117–1123. <https://doi.org/10.1007/S00280-009-1119-1>
123. Mahalwar, R., & Khanna, D. (2013). Pleiotropic antioxidant potential of rosuvastatin in preventing cardiovascular disorders. *European Journal of Pharmacology*, *711*(1–3), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.04.025>
124. Maheshwari, R. A., Balaraman, R., Sailor, G. U., & Sen, D. B. (2015). Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, *47*(1), 17–21. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.150311>
125. Malhotra, H. S., & Goa, K. L. (2001). Atorvastatin. *Drugs*, *61*(12), 1835–1881. <https://doi.org/10.2165/00003495-200161120-00012>
126. Manna, M. J., Al-Karagoli, E. S., & Shakir Fadhil, Z. (2018). Effect of acute Atorvastatin treatment in an experimental model of colitis Production and Hosted by. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, *10*(2), 1527–1534. <https://doi.org/10.26452/ijrps.v10i2.782>
127. Markowska, A., Antoszczak, M., Markowska, J., & Huczyński, A. (2020). Statins: HMG-CoA Reductase Inhibitors as Potential Anticancer Agents against Malignant Neoplasms in Women. *Pharmaceuticals*, *13*(12), 422. <https://doi.org/10.3390/ph13120422>
128. McFarland, A., Anoopkumar-Dukie, S., Arora, D., Grant, G., McDermott, C., Perkins, A., & Davey, A. (2014). Molecular Mechanisms Underlying the Effects of Statins in the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(11), 20607–20637. <https://doi.org/10.3390/ijms151120607>
129. McKenney, J. M. (2003). Pharmacologic characteristics of statins. *Clinical Cardiology*, *26*(S3), 32–38. <https://doi.org/10.1002/clc.4960261507>

130. Medeiros, A. da C., Azevedo, Í. M., Lima, M. L., Araújo Filho, I., & Moreira, M. D. (2018). Efeitos da simvastatina na mucosite gastrointestinal induzida por 5-fluorouracil em ratos. *Revista Do Colégio Brasileiro de Cirurgias*, 45(5). <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20181968>
131. Medeiros, A. da C., Azevedo, Í. M., Lima, M. L., Filho, I. A., & Moreira, M. D. (2018). Effects of simvastatin on 5-fluorouracil-induced gastrointestinal mucositis in rats. *Revista Do Colegio Brasileiro de Cirurgies*, 45(5). <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20181968>
132. Medeiros, C. A. C. X., Leitão, R. F. C., Macedo, R. N., Barboza, D. R. M. M., Gomes, A. S., Nogueira, N. A. P., Alencar, N. M. N., Ribeiro, R. A., & Brito, G. A. C. (2011a). Effect of atorvastatin on 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67(5), 1085–1100. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1409-7>
133. Medeiros, C. A. C. X., Leitão, R. F. C., Macedo, R. N., Barboza, D. R. M. M., Gomes, A. S., Nogueira, N. A. P., Alencar, N. M. N., Ribeiro, R. A., & Brito, G. A. C. (2011b). Effect of atorvastatin on 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67(5), 1085–1100. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1409-7>
134. Miura, K., Kinouchi, M., Ishida, K., Fujibuchi, W., Naitoh, T., Ogawa, H., Ando, T., Yazaki, N., Watanabe, K., Haneda, S., Shibata, C., & Sasaki, I. (2010). 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs. *Cancers*, 2(3), 1717–1730. <https://doi.org/10.3390/cancers2031717>
135. Mortensen, H. R., Overgaard, J., Specht, L., Overgaard, M., Johansen, J., Evensen, J. F., Andersen, L. J., Andersen, E., & Grau, C. (2012). Prevalence and peak incidence of acute and late normal tissue morbidity in the DAHANCA 6&7 randomised trial with accelerated radiotherapy for head and neck cancer. *Radiotherapy and Oncology*, 103(1), 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2012.01.002>
136. Murphy, C., Deplazes, E., Cranfield, C. G., & Garcia, A. (2020). The Role of Structure and Biophysical Properties in the Pleiotropic Effects of Statins. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8745. <https://doi.org/10.3390/ijms21228745>
137. Nagayoshi, H., Fukatsu, K., Ueno, C., Hara, E., Maeshima, Y., Omata, J., Hiraide, H., & Mochizuki, H. (2005). 5-Fluorouracil infusion reduces gut-

- associated lymphoid tissue cell number and mucosal immunoglobulin a levels. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 29(6), 395–400. <https://doi.org/10.1177/0148607105029006395>
138. Naito, Y., Katada, K., Takagi, T., Tsuboi, H., Isozaki, Y., Handa, O., Kokura, S., Yoshida, N., Ichikawa, H., & Yoshikawa, T. (2006a). Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, reduces the colonic inflammatory response in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *International Journal of Molecular Medicine*, 17(6), 997–1004.
139. Naito, Y., Katada, K., Takagi, T., Tsuboi, H., Isozaki, Y., Handa, O., Kokura, S., Yoshida, N., Ichikawa, H., & Yoshikawa, T. (2006b). Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, reduces the colonic inflammatory response in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *International Journal of Molecular Medicine*, 17(6), 997–1004. <https://doi.org/10.3892/ijmm.17.6.997>
140. Nies, A. T., Magdy, T., Schwab, M., & Zanger, U. M. (2015). *Role of ABC Transporters in Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy Response* (pp. 217–243). <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2014.10.007>
141. Oishi, M., Tokuhara, K., Miki, H., Tanaka, Y., Yamaki, S., Kaibori, M., Yoshizawa, K., Yuri, T., Yoshigai, E., Nishizawa, M., Okumura, T., & Kwon, A. H. (2014a). Temporal and spatial dependence of inflammatory biomarkers and suppression by fluvastatin in dextran sodium sulfate-induced rat colitis model. *Digestive Diseases and Sciences*, 59(9), 2126–2135. <https://doi.org/10.1007/s10620-014-3163-x>
142. Oishi, M., Tokuhara, K., Miki, H., Tanaka, Y., Yamaki, S., Kaibori, M., Yoshizawa, K., Yuri, T., Yoshigai, E., Nishizawa, M., Okumura, T., & Kwon, A.-H. (2014b). Temporal and Spatial Dependence of Inflammatory Biomarkers and Suppression by Fluvastatin in Dextran Sodium Sulfate-Induced Rat Colitis Model. *Digestive Diseases and Sciences*, 59(9), 2126–2135. <https://doi.org/10.1007/s10620-014-3163-x>
143. Oliveira, M. M. B., de Araújo, A. A., Ribeiro, S. B., de Sales Mota, P. C. M., Marques, V. B., da Silva Martins Rebouças, C., Figueiredo, J. G., Barra, P. B., de Castro Brito, G. A., de Carvalho Leitão, R. F., Guerra, G. C. B., & de Medeiros, C. A. C. X. (2021). Losartan improves intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in mice. *Scientific Reports 2021 11:1*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01969-x>

144. Pal, S., Ghosh, M., Ghosh, S., Bhattacharyya, S., & Sil, P. C. (2015). Atorvastatin induced hepatic oxidative stress and apoptotic damage via MAPKs, mitochondria, calpain and caspase12 dependent pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.05.016>
145. Papachristou, M., Priftakis, D., Xanthopoulos, S., Datsiris, I., & Bouziotis, P. (2022). Biodistribution of intravenous [99mTc]Tc-phytate in mouse models of chemically and foreign-body induced sterile inflammation. *American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 12(3), 91–98.
146. Papanicolas, L. E., Gordon, D. L., Wesselingh, S. L., & Rogers, G. B. (2018). Not Just Antibiotics: Is Cancer Chemotherapy Driving Antimicrobial Resistance? *Trends in Microbiology*, 26(5), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.10.009>
147. Park, H. J., Tae, •, Kim, W., Jae, •, & Seo, N. (2004). Effect of Atorvastatin, a HMG-CoA Reductase Inhibitor, in Experimental Colitis in Mice. In *The Korean Journal of Pathology* (Vol. 38, Issue 6). The Korean Society of Pathologists and the Korean Society for Cytopathology.
148. Parsamanesh, N., Moossavi, M., Bahrami, A., Fereidouni, M., Barreto, G., & Sahebkar, A. (2019a). NLRP3 inflammasome as a treatment target in atherosclerosis: A focus on statin therapy. *International Immunopharmacology*, 73, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.05.006>
149. Parsamanesh, N., Moossavi, M., Bahrami, A., Fereidouni, M., Barreto, G., & Sahebkar, A. (2019b). NLRP3 inflammasome as a treatment target in atherosclerosis: A focus on statin therapy. *International Immunopharmacology*, 73, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.05.006>
150. Perucha, E., Melchiotti, R., Bibby, J. A., Wu, W., Frederiksen, K. S., Roberts, C. A., Hall, Z., LeFrieck, G., Robertson, K. A., Lavender, P., Gerwien, J. G., Taams, L. S., Griffin, J. L., de Rinaldis, E., van Baarsen, L. G. M., Kemper, C., Ghazal, P., & Cope, A. P. (2019). The cholesterol biosynthesis pathway regulates IL-10 expression in human Th1 cells. *Nature Communications*, 10(1), 498. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08332-9>
151. Plosker, G. L., & Lyseng-Williamson, K. A. (2007). Atorvastatin. *Pharmacoeconomics*, 25(12), 1031–1053. <https://doi.org/10.2165/00019053-200725120-00005>

152. Quintanilha, M. F., Miranda, V. C., Souza, R. O., Gallotti, B., Cruz, C., Santos, E. A., Alvarez-Leite, J. I., Jesus, L. C. L., Azevedo, V., Trindade, L. M., Cardoso, V. N., Ferreira, E., Carvalho, B. A., Soares, P. M. G., Vieira, A. T., Nicoli, J. R., & Martins, F. S. (2022). *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* 51A attenuates intestinal injury against irinotecan-induced mucositis in mice. *Life Sciences*, 289, 120243. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120243>
153. Raber-Durlacher, J. E., Elad, S., & Barasch, A. (2010). Oral mucositis. *Oral Oncology*, 46(6), 452–456. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.012>
154. Rang, R., Ritter, J., Flower, R., & Henderson, G. (2015). *Rang & Dale Farmacologia*. [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=XFieDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Rang,+R.,+Ritter,+J.+M.,+Flower,+R.+J.,+%26+Henderson,+G.+\(2015\).+Rang+%26+Dale+Farmacologia.+Elsevier+Brasil.&ots=yqLJIHwpN9&sig=AdMkRBkjF2LN2RCCEypZ7nQth8U](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=XFieDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Rang,+R.,+Ritter,+J.+M.,+Flower,+R.+J.,+%26+Henderson,+G.+(2015).+Rang+%26+Dale+Farmacologia.+Elsevier+Brasil.&ots=yqLJIHwpN9&sig=AdMkRBkjF2LN2RCCEypZ7nQth8U)
155. Rani, I., Vaiphei, K., & Agnihotri, N. (2014). Supplementation of fish oil augments efficacy and attenuates toxicity of 5-fluorouracil in 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride/dextran sulfate sodium-induced colon carcinogenesis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 74(2), 309–322. <https://doi.org/10.1007/s00280-014-2497-6>
156. Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S. T., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2013). Abrogation of 5-fluorouracil induced renal toxicity by bee propolis via targeting oxidative stress and inflammation in Wistar rats. *Journal of Pharmacy Research*, 7(2), 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.03.003>
157. Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2014). Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 66, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.01.026>
158. Rashidian, A., Muhammadnejad, A., Dehpour, A. R., Mehr, S. E., Akhavan, M. M., Shirkoohi, R., Chamanara, M., Mousavi, S. E., & Rezaayat, S. M. (2016a). Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Inflammopharmacology*, 24(2–3), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0263-6>

159. Rashidian, A., Muhammadnejad, A., Dehpour, A. R., Mehr, S. E., Akhavan, M. M., Shirkoohi, R., Chamanara, M., Mousavi, S. E., & Rezayat, S. M. (2016b). Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Inflammopharmacology*, *24*(2–3), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0263-6>
160. Rashidian, A., Muhammadnejad, A., Dehpour, A.-R., Mehr, S. E., Akhavan, M. M., Shirkoohi, R., Chamanara, M., Mousavi, S.-E., & Rezayat, S.-M. (2016c). Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Inflammopharmacology*, *24*(2–3), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0263-6>
161. Rashidian, A., Muhammadnejad, A., Dehpour, A.-R., Mehr, S. E., Akhavan, M. M., Shirkoohi, R., Chamanara, M., Mousavi, S.-E., & Rezayat, S.-M. (2016d). Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Inflammopharmacology*, *24*(2–3), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0263-6>
162. Ren, W., Wang, K., Yin, J., Chen, S., Liu, G., Tan, B., Wu, G., Bazer, F. W., Peng, Y., & Yin, Y. (2016). Glutamine-Induced Secretion of Intestinal Secretory Immunoglobulin A: A Mechanistic Perspective. *Frontiers in Immunology*, *7*(NOV), 503. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2016.00503>
163. Sarkar, K., Sinha, A. K., & Mehta, J. L. (2006). The role of statins in endothelial dysfunction in hypertension. *Current Opinion in Cardiology*, *21*(4), 316–321. <https://doi.org/10.1097/01.hco.0000231401.87232.71>
164. Sasaki, M., Bharwani, S., Jordan, P., Joh, T., Manas, K., Warren, A., Harada, H., Carter, P., Elrod, J. W., Wolcott, M., Grisham, M. B., & Alexander, J. S. (2003). The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitor pravastatin reduces disease activity and inflammation in dextran-sulfate induced colitis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *305*(1), 78–85. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.044099>
165. Saunders, D. P., Epstein, J. B., Elad, S., Allemano, J., Bossi, P., van de Wetering, M. D., Rao, N. G., Potting, C., Cheng, K. K., Freidank, A., Brennan, M. T., Bowen, J., Dennis, K., & Lalla, R. V. (2013). Systematic review of antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, and analgesics for the management of oral mucositis in cancer patients. *Supportive Care in Cancer*, *21*(11), 3191–3207. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1871-y>

166. Schachter, M. (2005). Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, *19*(1), 117–125. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2004.00299.x>
167. Schmucker, D. L., Owen, R. L., Outenreath, R., & Thoreux, K. (2003). Basis for the Age-related Decline in Intestinal Mucosal Immunity. *Clinical and Developmental Immunology*, *10*(2–4), 167–172. <https://doi.org/10.1080/10446670310001642168>
168. Scully, C., Sonis, S., & Diz, P. (2006). Oral mucositis. *Oral Diseases*, *12*(3), 229–241. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2006.01258.x>
169. Sengul, E., Gelen, V., Yildirim, S., Tekin, S., & Dag, Y. (2021). The Effects of Selenium in Acrylamide-Induced Nephrotoxicity in Rats: Roles of Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and DNA Damage. *Biological Trace Element Research*, *199*(1), 173–184. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02111-0>
170. Serafin, M. B., & Hörner, R. (2018). Drug repositioning, a new alternative in infectious diseases. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *22*(3), 252–256. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.05.007>
171. Shaghghi, Z., Alvandi, M., Farzipour, S., Dehbanpour, M. R., & Nosrati, S. (2022). A review of effects of atorvastatin in cancer therapy. *Medical Oncology*, *40*(1), 27. <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01892-9>
172. Shahani, S., Mehraban, N., Talebpour Amiri, F., Abedi, S. M., Noaparast, Z., & Mohammadinia, S. (2023). Melissa Officinalis L. aqueous extract pretreatment decreases methotrexate-induced hepatotoxicity at lower dose and increases ^{99m}Tc-phytate liver uptake, as a probe of liver toxicity assessment, in rats. *Annals of Nuclear Medicine*, *37*(3), 166–175. <https://doi.org/10.1007/s12149-022-01813-w>
173. Shankar, A., Roy, S., Bhandari, M., Rath, G. K., Biswas, A. S., Kanodia, R., Adhikari, N., & Sachan, R. (2017a). Current Trends in Management of Oral Mucositis in Cancer Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, *18*(8), 2019–2026. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.8.2019>
174. Shankar, A., Roy, S., Bhandari, M., Rath, G. K., Biswas, A. S., Kanodia, R., Adhikari, N., & Sachan, R. (2017b). Current trends in management of oral mucositis in cancer treatment. In *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*

- (Vol. 18, Issue 8, pp. 2019–2026). Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.8.2019>
175. Shin, S. K., Cho, J. H., Kim, E. J., Kim, E.-K., Park, D. K., Kwon, K. A., Chung, J.-W., Kim, K. O., & Kim, Y. J. (2017). Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of rosuvastatin by regulation of oxidative stress in a dextran sulfate sodium-induced colitis model. *World Journal of Gastroenterology*, *23*(25), 4559. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i25.4559>
176. Soliman, N. A., Keshk, W. A., Rizk, F. H., & Ibrahim, M. A. (2019). The possible ameliorative effect of simvastatin versus sulfasalazine on acetic acid induced ulcerative colitis in adult rats. *Chemico-Biological Interactions*, *298*, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.11.002>
177. Soliman, N., Keshk, W. A., Rizk, F. H., & Ibrahim, M. A. (2019). The possible ameliorative effect of simvastatin versus sulfasalazine on acetic acid induced ulcerative colitis in adult rats. *Chemico-Biological Interactions*, *298*, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.11.002>
178. Sonis, S. T. (2004a). Pathobiology of mucositis. *Seminars in Oncology Nursing*, *20*(1), 11–15. <https://doi.org/10.1053/j.soncn.2003.10.003>
179. Sonis, S. T. (2004b). The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews Cancer*, *4*(4), 277–284. <https://doi.org/10.1038/nrc1318>
180. Sonis, S. T. (2009). Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. *Oral Oncology*, *45*(12), 1015–1020. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2009.08.006>
181. Sonis, S. T. (2021a). Treatment for Oral Mucositis—Current Options and an Update of Small Molecules Under Development. *Current Treatment Options in Oncology*, *22*(3), 25. <https://doi.org/10.1007/s11864-021-00823-6>
182. Sonis, S. T. (2021b). Treatment for Oral Mucositis—Current Options and an Update of Small Molecules Under Development. *Current Treatment Options in Oncology* 2021 22:3, *22*(3), 1–14. <https://doi.org/10.1007/S11864-021-00823-6>
183. Sougiannis, A. T., VanderVeen, B. N., Davis, J. M., Fan, D., & Murphy, E. A. (2021). Understanding chemotherapy-induced intestinal mucositis and strategies to improve gut resilience. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, *320*(5), G712–G719.

- https://doi.org/10.1152/AJPGI.00380.2020/ASSET/IMAGES/LARGE/AJPGI.00380.2020_F001.JPEG
184. Strath, M., Warren, D. J., & Sanderson, C. J. (1985). Detection of eosinophils using an eosinophil peroxidase assay. Its use as an assay for eosinophil differentiation factors. *Journal of Immunological Methods*, *83*(2), 209–215. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(85\)90242-X](https://doi.org/10.1016/0022-1759(85)90242-X)
185. Stringer, A. M., Gibson, R. J., Logan, R. M., Bowen, J. M., Yeoh, A. S. J., Hamilton, J., & Keefe, D. M. K. (2009). Gastrointestinal Microflora and Mucins May Play a Critical Role in the Development of 5-Fluorouracil-Induced Gastrointestinal Mucositis. *Experimental Biology and Medicine*, *234*(4), 430–441. <https://doi.org/10.3181/0810-RM-301>
186. Suzuki, S., Tajima, T., Sassa, S., Kudo, H., Okayasu, I., & Sakamoto, S. (2006). Preventive effect of fluvastatin on ulcerative colitis-associated carcinogenesis in mice. *Anticancer Research*, *26*(6 B), 4223–4228.
187. Thorn, C. F., Marsh, S., Carrillo, M. W., McLeod, H. L., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). PharmGKB summary. *Pharmacogenetics and Genomics*, *21*(4), 237–242. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32833c6107>
188. Thorpe, D. (2019). The role of mucins in mucositis. *Current Opinion in Supportive & Palliative Care*, *13*(2), 114–118. <https://doi.org/10.1097/SPC.0000000000000423>
189. Thorpe, D., Sultani, M., & Stringer, A. (2019). Irinotecan induces enterocyte cell death and changes to muc2 and muc4 composition during mucositis in a tumour-bearing DA rat model. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *83*(5), 893–904. <https://doi.org/10.1007/s00280-019-03787-5>
190. Toth, P. P., & Banach, M. (2019). Statins: Then and Now. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal*, *15*(1), 23. <https://doi.org/10.14797/mdcj-15-1-23>
191. Ungaro, R., Chang, H. L., Cote-Daigneaut, J., Mehandru, S., Atreja, A., & Colombel, J.-F. (2016). Statins Associated With Decreased Risk of New Onset Inflammatory Bowel Disease. *American Journal of Gastroenterology*, *111*(10), 1416–1423. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.233>
192. van Kuilenburg, A. B. P. (2004). Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *European Journal of Cancer*, *40*(7), 939–950. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2003.12.004>

193. Van Sebille, Y. Z. A., Stansborough, R., Wardill, H. R., Bateman, E., Gibson, R. J., & Keefe, D. M. (2015). Management of Mucositis During Chemotherapy: From Pathophysiology to Pragmatic Therapeutics. In *Current Oncology Reports* (Vol. 17, Issue 11, pp. 1–8). Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11912-015-0474-9>
194. Viele, C. S. (2003). Overview of Chemotherapy-Induced Diarrhea. *Seminars in Oncology Nursing*, 19(SUPPL. 3), 2–5. <https://doi.org/10.1053/j.soncn.2003.09.007>
195. Villa, A., & Sonis, S. T. (2015). Mucositis. *Current Opinion in Oncology*, 27(3), 159–164. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000180>
196. Villa, A., & Sonis, S. T. (2020a). An update on pharmacotherapies in active development for the management of cancer regimen-associated oral mucositis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 21(5), 541–548. <https://doi.org/10.1080/14656566.2020.1718652>
197. Villa, A., & Sonis, S. T. (2020b). An update on pharmacotherapies in active development for the management of cancer regimen-associated oral mucositis. In *Expert Opinion on Pharmacotherapy* (Vol. 21, Issue 5, pp. 541–548). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14656566.2020.1718652>
198. Vital, K. D., Cardoso, B. G., Lima, I. P., Campos, A. B., Teixeira, B. F., Pires, L. O., Dias, B. C., de Alcantara Candido, P., Cardoso, V. N., & Fernandes, S. O. A. (2023). Therapeutic effects and the impact of statins in the prevention of ulcerative colitis in preclinical models: A systematic review. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 37(3), 493–507. <https://doi.org/10.1111/fcp.12859>
199. Vodenkova, S., Buchler, T., Cervena, K., Veskrnova, V., Vodicka, P., & Vymetalkova, V. (2020). 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacology & Therapeutics*, 206, 107447. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107447>
200. von Bültzingslöwen, I., Adlerberth, I., Wold, A. E., Dahlén, G., & Jontell, M. (2003). Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria. *Oral Microbiology and Immunology*, 18(5), 278–284. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2003.00075.x>
201. Wang, C. Y., Liu, P. Y., & Liao, J. K. (2008). Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. In *Trends in Molecular*

- Medicine* (Vol. 14, Issue 1, pp. 37–44). Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.11.004>
202. Wardill, H. R., & Bowen, J. M. (2013). Chemotherapy-induced mucosal barrier dysfunction: An updated review on the role of intestinal tight junctions. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 7(2), 155–161. <https://doi.org/10.1097/SPC.0B013E32835F3E8C>
203. Wei, C.-Y., Huang, K.-C., Chou, Y.-H., Hsieh, P.-F., Lin, K.-H., & Lin, W.-W. (2006). The Role of Rho-Associated Kinase in Differential Regulation by Statins of Interleukin-1 β - and Lipopolysaccharide-Mediated Nuclear Factor κ B Activation and Inducible Nitric-Oxide Synthase Gene Expression in Vascular Smooth Muscle Cells. *Molecular Pharmacology*, 69(3), 960–967. <https://doi.org/10.1124/mol.105.017368>
204. Wei, Y.-H., Liao, S.-L., Wang, S.-H., Wang, C.-C., & Yang, C.-H. (2021). Simvastatin and ROCK Inhibitor Y-27632 Inhibit Myofibroblast Differentiation of Graves' Ophthalmopathy-Derived Orbital Fibroblasts via RhoA-Mediated ERK and p38 Signaling Pathways. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.607968>
205. Wells, J. M., Brummer, R. J., Derrien, M., MacDonald, T. T., Troost, F., Cani, P. D., Theodorou, V., Dekker, J., Méheust, A., De Vos, W. M., Mercenier, A., Nauta, A., & Garcia-Rodenas, C. L. (2017). Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. In *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* (Vol. 312, Issue 3, pp. G171–G193). American Physiological Society. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00048.2015>
206. Wong, D. V. T., Lima-Júnior, R. C. P., Carvalho, C. B. M., Borges, V. F., Wanderley, C. W. S., Bem, A. X. C., Leite, C. A. V. G., Teixeira, M. A., Batista, G. L. P., Silva, R. L., Cunha, T. M., Brito, G. A. C., Almeida, P. R. C., Cunha, F. Q., & Ribeiro, R. A. (2015). The Adaptor Protein Myd88 Is a Key Signaling Molecule in the Pathogenesis of Irinotecan-Induced Intestinal Mucositis. *PLOS ONE*, 10(10), e0139985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139985>
207. Xie, P., Mo, J.-L., Liu, J.-H., Li, X., Tan, L.-M., Zhang, W., Zhou, H.-H., & Liu, Z.-Q. (2020). Pharmacogenomics of 5-fluorouracil in colorectal cancer: review and update. *Cellular Oncology*, 43(6), 989–1001. <https://doi.org/10.1007/s13402-020-00529-1>

208. Yan, X. xia, Li, H. long, Zhang, Y. ting, Wu, S. yan, Lu, H. lei, Yu, X. lu, Meng, F. guo, Sun, J. hua, & Gong, L. kun. (2019). A new recombinant MS-superoxide dismutase alleviates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Acta Pharmacologica Sinica* 2019 41:3, 41(3), 348–357. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0295-8>
209. Yousef, H. N., & Aboelwafa, H. R. (2017). The potential protective role of taurine against 5-fluorouracil-induced nephrotoxicity in adult male rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(5), 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2017.01.012>
210. Yue, R., Zuo, C., Zeng, J., Su, B., Tao, Y., Huang, S., & Zeng, R. (2017). Atorvastatin attenuates experimental contrast-induced acute kidney injury: a role for TLR4/MyD88 signaling pathway. *Renal Failure*, 39(1), 643–651. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2017.1361838>
211. Zhang, L., Jin, Y., Peng, J., Chen, W., Lisha, L., & Lin, J. (2019). Qingjie Fuzheng Granule attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal damage. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 118, 109223. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109223>
212. Zhang, Q., Dong, J., & Yu, Z. (2020). Pleiotropic use of Statins as non-lipid-lowering drugs. *International Journal of Biological Sciences*, 16(14), 2704. <https://doi.org/10.7150/IJBS.42965>
213. Zhang, T., Bai, R., Wang, Q., Wang, K., Li, X., Liu, K., Ryu, J., Wang, T., Chang, X., Ma, W., Bode, A. M., Xia, Q., Song, Y., & Dong, Z. (2019). Fluvastatin Inhibits HMG-CoA Reductase and Prevents Non-Small Cell Lung Carcinogenesis. *Cancer Prevention Research*, 12(12), 837–848. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-19-0211>
214. Zhang, X., Deng, Q. H., Deng, J. H., Wang, S. J., & Chen, Q. (2020). Lovastatin derivative dehydrolovastatin ameliorates ulcerative colitis in mice by suppressing NF- κ B and inflammatory cytokine expression. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 24(2), 137–147. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2020.24.2.137>
215. Zhao, G., Yu, Y.-M., Kaneki, M., Bonab, A. A., Tompkins, R. G., & Fischman, A. J. (2015). Simvastatin Reduces Burn Injury-induced Splenic Apoptosis via Downregulation of the TNF- α /NF- κ B Pathway. *Annals of Surgery*, 261(5), 1006–1012. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000764>

216. Zhou, Q., & Liao, J. K. (2009). Statins and Cardiovascular Diseases: From Cholesterol Lowering to Pleiotropy. *Current Pharmaceutical Design*, 15(5), 467–478. <https://doi.org/10.2174/138161209787315684>
217. Zhou, T., Zhou, S. hua, Qi, S. shan, Shen, X. qian, Zeng, G. feng, & Zhou, H. nian. (2006a). The effect of atorvastatin on serum myeloperoxidase and CRP levels in patients with acute coronary syndrome. *Clinica Chimica Acta*, 368(1–2), 168–172. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.12.040>
218. Zhou, T., Zhou, S., Qi, S., Shen, X., Zeng, G., & Zhou, H. (2006b). The effect of atorvastatin on serum myeloperoxidase and CRP levels in patients with acute coronary syndrome. *Clinica Chimica Acta*, 368(1–2), 168–172. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.12.040>

CAPITULO III

AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DA ATORVASTATINA SOBRE A TOXICIDADE SISTÊMICA E HEPÁTICA EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE MUCOSITE GASTROINTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL EM CAMUNDONGOS

Kátia Duarte Vital¹; Luiz Octávio Pires¹; Janayne Luihan Silva²; Jorge Lucas Nascimento Souza³; Jacqueline Alvarez-Leite² Lilian Lacerda Bueno³; Enio Ferreira⁴; Flaviano Santos Martins⁵; Valbert Nascimento Cardoso¹; Simone Odília Antunes Fernandes¹

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

² Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

³ Departamento Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil;

⁴ Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil;

⁵ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Kátia Duarte Vital: <https://orcid.org/0000-0002-9094-4843>

Luiz Octavio Pires: <https://orcid.org/0009-0007-3295-131X>

Jacqueline Alvarez-Leite: <https://orcid.org/0000-0001-6601-9853>

Janayne Luihan Silva: <https://orcid.org/0000-0002-6975-1289>

Lilian Lacerda Bueno: <https://orcid.org/0000-0002-0794-4237>

Jorge Lucas Nascimento Souza: <https://orcid.org/0000-0002-8653-0170>

Ênio Ferreira: <https://orcid.org/0000-0002-1835-0303>

Flaviano Santos Martins: <https://orcid.org/0000-0003-0741-3062>

Valbert Nascimento Cardoso: <https://orcid.org/0000-0001-7597-9602>

Simone Odília Antunes Fernandes: <https://orcid.org/0000-0002-6139-5187>

Autor correspondente: Simone Odília Antunes Fernandes, Laboratório de Radioisótopos, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos 6627 Pampulha, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mail: simoneodilia@yahoo.com.br

Resumo

A quimioterapia citotóxica está geralmente associada a numerosos efeitos adversos aos pacientes, como mielossupressão, hepatotoxicidade e distúrbios gastrointestinais. As estatinas são inibidores da 3-hidroxi-3-metil glutaril coenzima redutase, usadas para o tratamento da dislipidemia e produzem efeitos pleiotrópicos benéficos. Acredita-se que as estatinas possam ser uma alternativa no auxílio ao controle da toxicidade dos quimioterápicos. O objetivo deste trabalho é avaliar o papel da atorvastatina (ATV) na citotoxicidade sistêmica e hepática em modelo animal de mucosite gastrointestinal causada por 5-FU. Nossos resultados demonstraram que o ATV nas doses de 5 e 10 mg/kg teve papel protetor para o fígado, reduzindo os níveis de AST, ALT e MDA. A ATV reduz esses danos celulares evidenciado pelo aumento da captação de fitato-^{99m}Tc na região hepática. Concluímos que uso da ATV em doses clínicas adequadas pode ser considerada como boa alternativa para minimizar os efeitos colaterais tóxicos do 5-FU.

Keywords: Quimioterapia; Cintilografia; Atorvastatina; Reposicionamento de Medicamentos; Via do mevalonato; fitato de sódio (^{99m}Tc); hepatotoxicidade.

1. INTRODUÇÃO

O tratamento de malignidades com quimioterapia citotóxica geralmente está associada a efeitos adversos de curto e longo prazo. Uma das drogas antineoplásicas amplamente utilizadas em tumores sólidos é o 5-fluorouracil (5-FU). Embora a droga seja geralmente bem tolerada, ela possui importante toxicidade entre os pacientes, incluindo, mielossupressão, hepatotoxicidade, neurotoxicidade e distúrbios gastrointestinais (Muhammad, Sallam, and El-Abhar 2020). A mucosite é uma reação secundária a quimioterapia e pode ocorrer em qualquer área da camada mucosa do trato gastrointestinal levando a complicações como infecções, diarreia e toxicidade gastrointestinal. A mucosite tem sido diretamente associada ao uso de opioides, hospitalização prolongada, suporte nutricional e interrupções nos tratamentos de câncer (Elad et al. 2022; Isozaki and Brant 2022; Villa and Sonis 2015).

As opções para aliviar os efeitos colaterais do 5-FU são limitadas e o manejo adequado da mucosite é um elemento chave para melhorar a qualidade de vida dos pacientes e a reduzir do tempo de hospitalização (Elad et al. 2020). Inúmeras estratégias para o tratamento da mucosite gastrointestinal têm sido desenvolvidas para mitigar as complicações, no entanto, poucas diretrizes específicas foram disponibilizadas e estudos clínicos com resultados conflitantes ainda são recorrentes (Kusiak et al. 2020; Sylvester, Anderson, and Stringer 2020).

O desenvolvimento de novos medicamentos requer pesquisa básica multifacetada e de longo prazo, em alguns casos medicamentos resultantes são de alto custo devido à necessidade de grande aporte financeiro para o seu desenvolvimento (Hua et al. 2022). O termo reposicionamento de drogas é atualmente denotado como uma abordagem alternativa para encontrar novos usos de um medicamento original para tratar outras doenças além do pretendido (Ashburn and Thor 2004). Fármacos já conhecidos superam as estratégias tradicionais de desenvolvimento de novas entidades por apresentarem inúmeras vantagens, como por exemplo a caracterização do seu perfil de segurança e toxicidade já serem conhecidos (Hua et al. 2022). A maioria das drogas já é fenotipicamente bem caracterizada em termos de seus efeitos terapêuticos primários e efeitos adversos, bem como seu comportamento farmacocinético já ser estudado em seres humanos, diminuindo consideravelmente os custos de desenvolvimento de medicamentos (Jourdan et al. 2020; Low, Farouk, and Lal 2020).

Um medicamento pode também ter interações pleiotrópicas, que possibilitam o desenvolvimento de fármacos com múltiplos efeitos, todos pretendidos, que atuam em sinergia para proporcionar maior eficácia clínica (Jourdan et al. 2020). Neste aspecto as estatinas se destacam, para o tratamento da dislipidemia, reduzem os níveis de colesterol pela inibição da HMG-CoA redutase, que está localizada a montante da via do mevalonato que biossintetiza o colesterol a partir da acetil coenzima A (German and Liao 2023). As estatinas produzem efeitos benéficos que vão muito além de suas atividades hipolipemiantes, fato que é extensamente estudado e provado por vários ensaios clínicos que apoiaram a teoria da “pleiotropia das estatinas” (Kavalipati et al. 2015). Além da redução sobre o nível de colesterol, outros efeitos incluem principalmente propriedades anti-inflamatórias, antiproliferativas, antioxidantes, imunomoduladoras, anticancerígenas, neuroprotetoras e antitrombóticas (Liao and Laufs 2005). Diversos estudos têm sido realizados nos últimos anos com base nesses efeitos pleiotrópicos, com o objetivo de redirecionar o uso das estatinas para outros fins, realizando, portanto, o reposicionamento desta droga (Makoto Sasaki et al., 2003).

Diferentes membros dos inibidores da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, ou comumente da família das estatinas já foram estudados em reposicionamento para doenças inflamatórias intestinais e em alguns modelos de mucosite, apresentando resultados promissores. Acredita-se que as estatinas podem ser uma alternativa no auxílio do tratamento da mucosite (Crockett et al. 2012; A. da C. Medeiros et al. 2018; C. A. C. X. Medeiros et al. 2011; Ungaro et al. 2016). No entanto, ainda existem poucos dados sobre os efeitos benéficos da associação de atorvastatina (ATV) com drogas antitumorais para mucosite (Lim et al. 2015; C. A. C. X. Medeiros et al. 2011; Muhammad, Sallam e El-Abhar 2020). O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito protetor sistêmico, hepático e renal do ATV em um modelo de mucosite gastrointestinal induzida por 5-fluorouracil (5-FU).

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Animais e ética

Foram utilizados camundongos Balb/c machos com 6 semanas de idade (peso 20-24 g) obtidos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG, Belo Horizonte, Brasil). Os camundongos foram mantidos em gaiolas sob temperatura (25 ± 2 °C) e ciclo claro/escuro (12h) em sala controlada, com acesso *ad libitum* a água e ração (Nuvilab, Nuvital,

Curitiba, PR). Todos os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (disponível em <http://www.mctic.gov.br/concea>). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal Local (CEUA-UFMG, Protocolo nº 266/2019).

2.2 *Design Experimental*

Os camundongos foram randomizados em seis grupos experimentais (n = 6 animais por grupo): controle (CT), Atorvastatina (ATV 10 mg/kg), Mucosite (MUC), mucosite e tratados com atorvastatina (MUC+ATV 5, 10 e 30 mg/kg). A mucosite foi induzida a partir da administração intraperitoneal (i.p.) de 5-FU (Fauldfluor® Libbs, São Paulo, Brasil) na dose de 30 mg/kg/dia durante 5 dias. Como controle, foi utilizada solução salina estéril a 0,9%, pela mesma via (Huang et al. 2009). A atorvastatina (MERCK and CO., Inc., Rahway, NJ, EUA) foi dissolvida em solução salina (NaCl 0,9%) com administração oral por gavagem (o.g.) nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg/dia por 7 dias. No último dia de protocolo todos os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e solução de xilazina (16 mg/kg) (Agener União, Embu-Guaçu, Brasil).

2.3 *Análises Histopatológicas*

Os baços e os fígados foram removidos e pesados para determinar o seu índice de órgão (peso do órgão/peso corporal). As amostras de tecido de fígado e rim foram fixadas em formol tamponado a 4% e processadas para inclusão em parafina. Para cada amostra, pelo menos dois cortes histológicos (4–5 µm) foram corados com hematoxilina-eosina (HE), codificados e analisados por um único patologista que desconhecia as condições experimentais de cada grupo. Para análise, as fotografias foram realizadas em microscópio de luz convencional com aumento de 200x (Olympus–BX41 - Tóquio, Japão).

2.4 *Contagem de células sanguíneas e testes bioquímicos*

Amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca após a anestesia nos camundongos, e foram mantidas em tubos de ensaio contendo K₃EDTA. O número de hemácias, neutrófilos e plaquetas no sangue dos animais foi monitorado por um analisador hematológico Mindray BC-2800Vet (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, Shenzhen, China).

Para análise bioquímica, as amostras de sangue foram armazenadas em microtubos com ativador de coágulo. Em seguida, o sangue total foi centrifugado a 3.000 rpm por 20 minutos e o soro foi obtido. Para as dosagens bioquímicas das aminotransferases AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), gama glutamiltransferase (GGT), creatinina e uréia, foram utilizados kits padrão da Bioclin® (Bioclin Quibasa, Brasil), seguindo as instruções do fabricante, mas com adaptações quanto ao volume de amostra. O volume de plasma utilizado para os ensaios foi de 10µL para ALT, GGT, creatinina uréia e 20µL para AST.

2.5 Stress Oxidativo

Amostras do fígado foram retiradas, lavadas com PBS para retirar o conteúdo intestinal e homogeneizadas em PBS gelado (1mL para cada 1g de tecido). Os fragmentos de tecido foram centrifugados a 12.000 g por 10 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi coletado e analisado quanto à peroxidação lipídica por substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), concentração de peróxido de hidrogênio e ensaios de atividade SOD. Todos os resultados foram normalizados usando concentração de proteína tecidual. A concentração de proteína foi avaliada usando o Lowry et al. método.

Para avaliação de TBARS, usamos o método conforme descrito por De Leon e Borges (Aguilar Diaz De Leon e Borges 2020) Resumidamente, o ensaio envolve a reação de produtos de peroxidação lipídica; principalmente malondialdeído (MDA) com ácido tiobarbitúrico (TBA) leva à formação de TBARS, que foi medido espectrofotometricamente a 530 nm. As concentrações de hidroperóxido foram medidas por oxidação de xilenol laranja como previamente descrito por Ewing et al. (Ewing et al. 2018). O princípio básico deste método é a oxidação de íons ferrosos pelos agentes oxidantes da amostra em íons férricos, que se ligam ao laranja de xilenol para dar um complexo que foi monitorado espectrofotometricamente a 560 nm. Por fim, a atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase foi avaliada de forma semelhante à descrita por Quintanilha et al. (Quintanilha et al. 2022). Assim, para o cálculo da atividade, considerou-se que 1 unidade (U) de SOD poderia impedir a auto-oxidação de 50% do pirogalol do padrão, medida espectrofotometricamente em 570 nm. Após normalização pela concentração de proteína no intestino delgado, o resultado foi expresso em unidades de SOD por miligrama de proteína.

2.6 *Cintilografia hepática com fitato de sódio (99m Tc)*

A cintilografia hepática foi realizada no 7º dia do protocolo experimental. O fitato de sódio (99m Tc) liofilizado (laboratório de radioisótopos da UFMG) foi preparado de acordo com as recomendações do fabricante e radiomarcado com aproximadamente 250 MBq de pertecnetato de sódio (99mTc) (IPEN, 2015). Os animais foram anestesiados e alíquotas contendo aproximadamente 4 MBq em 0,1 mL de fitato de sódio (99m Tc) foram administradas na veia lateral da cauda. Após a administração, os animais foram monitorados por 10 minutos para a aquisição das imagens na câmera gama para animais de pequeno porte equipada com colimador de baixa energia (Nuclide TH22, Mediso, Hungria). Cada animal foi posicionado na gama câmara em decúbito dorsal e o tempo de monitoramento foi de 600 segundos, com os seguintes parâmetros de aquisição: Matriz: 256 x 256 x 16; Orientação: 0º; Colimador: LEHR.

Para avaliação quantitativa da captação do fitato de sódio (99m Tc) pelos órgãos *ex vivo*, após a realização das imagens na gama câmara, os animais foram novamente anestesiados, o fígado e o baço retirados, pesados e colocados em tubos apropriados para determinação da radioatividade por meio de um contador gama automático (Wizard 1480; PerkinElmer/Wallac, Turku/Finlândia). Para o fígado e o baço, uma dose padrão contendo a mesma quantidade de radioatividade injetada nos animais foi contada simultaneamente e definida como 100% de radioatividade. Os dados foram expressos como %ID/g de fitato de sódio (99m Tc) usando a seguinte equação: % dose/g = (cpm em g de órgão / cpm de padrão) × 100, onde cpm representa contagens de radioatividade por minuto.

2.7 *Análises estatísticas*

As análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad, Inc., La Jolla, CA, EUA). Os dados foram avaliados quanto à normalidade de distribuição por meio do teste de Shapiro-Wilk. Os dados que assumiram distribuição normal foram testados pela análise de ANOVA seguida por um teste de comparação múltipla de Newman-Keuls. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn. Os resultados foram expressos como médias e erros padrão ou medianas e intervalos interquartis. Uma diferença significativa foi definida como $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 *Histologia*

A estrutura histológica do fígado revelou aspecto normal no grupo controle e ATV, com hepatócitos de formato poligonal com núcleos redondos proeminentes e citoplasma eosinofílico, sinuóides hepáticos espaçados com algumas células de Kupffer em seu interior (Fig. 1a). Enquanto os tecidos hepáticos do grupo tratado com 5-FU e ATV 5, 10, 30 mg/kg apresentaram hepatócitos levemente degenerados, com presença de vesículas discretas no interior do citoplasma, compatíveis com degeneração hidrópica, e em algumas áreas, é possível observar discreta dilatação dos sinusóides (Fig. 1 c, d, e). Não foram observadas alterações nas células de Kupffer, inflamação, bem como outras alterações celulares compatíveis com necrose, colestase ou esteatose.

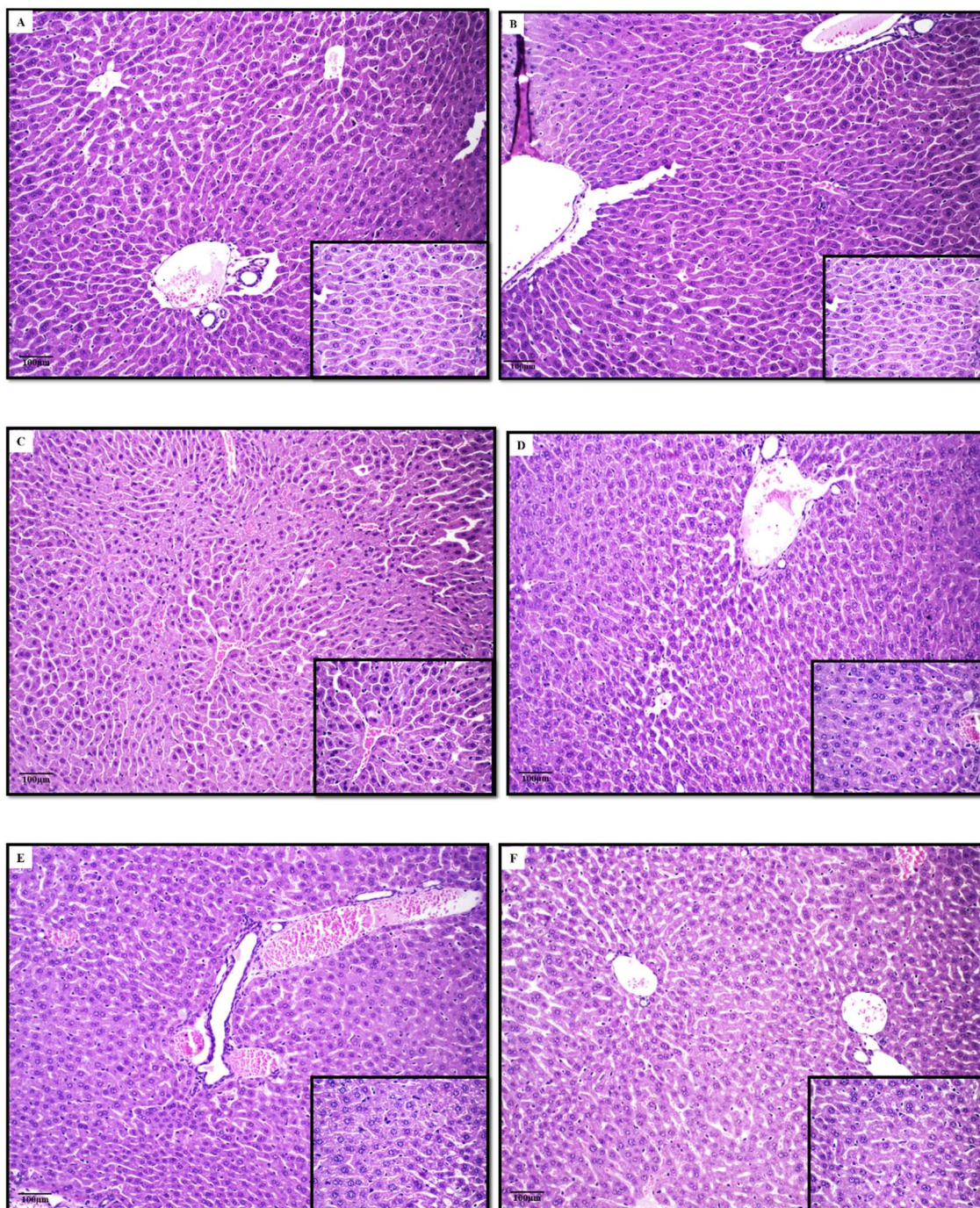


Figura. 1 - Imagens histopatológicas do fígado de camundongos: (objetiva: $\times 20$, escala 100 μm - CT (a); ATV (b); MUC (c); MUC + ATV 5 mg/kg (d); MUC + ATV 10 mg/kg (e) MUC + ATV 30 mg/kg (f) HE (n=6).

O exame microscópico do córtex renal no grupo controle revelou uma estrutura histológica normal (Fig. 2 a, b). Os corpúsculos renais apresentavam cápsulas de Bowman de parede dupla ao redor dos glomérulos, formando um aglomerado de capilares glomerulares. Os túbulos contorcidos proximais também apresentavam uma aparência

normal, com um lúmen estreito revestido por células epiteliais colunares baixas, enquanto os túbulos contorcidos distais apresentam um lúmen ligeiramente distendido revestido por células epiteliais cubóides. Os animais que receberam 5-FU apresentaram alterações histopatológicas discretas, alguns corpúsculos renais exibiam cápsulas de Bowman expandidas ao redor dos glomérulos com leve retração com aspecto de encolhimento, mostrando leve congestão glomerular (Fig. 2 c). Não foram visualizados cristais, cilindros e a presença de infiltrado inflamatório (El-Sayyad 2009; İşeri et al., 2007).

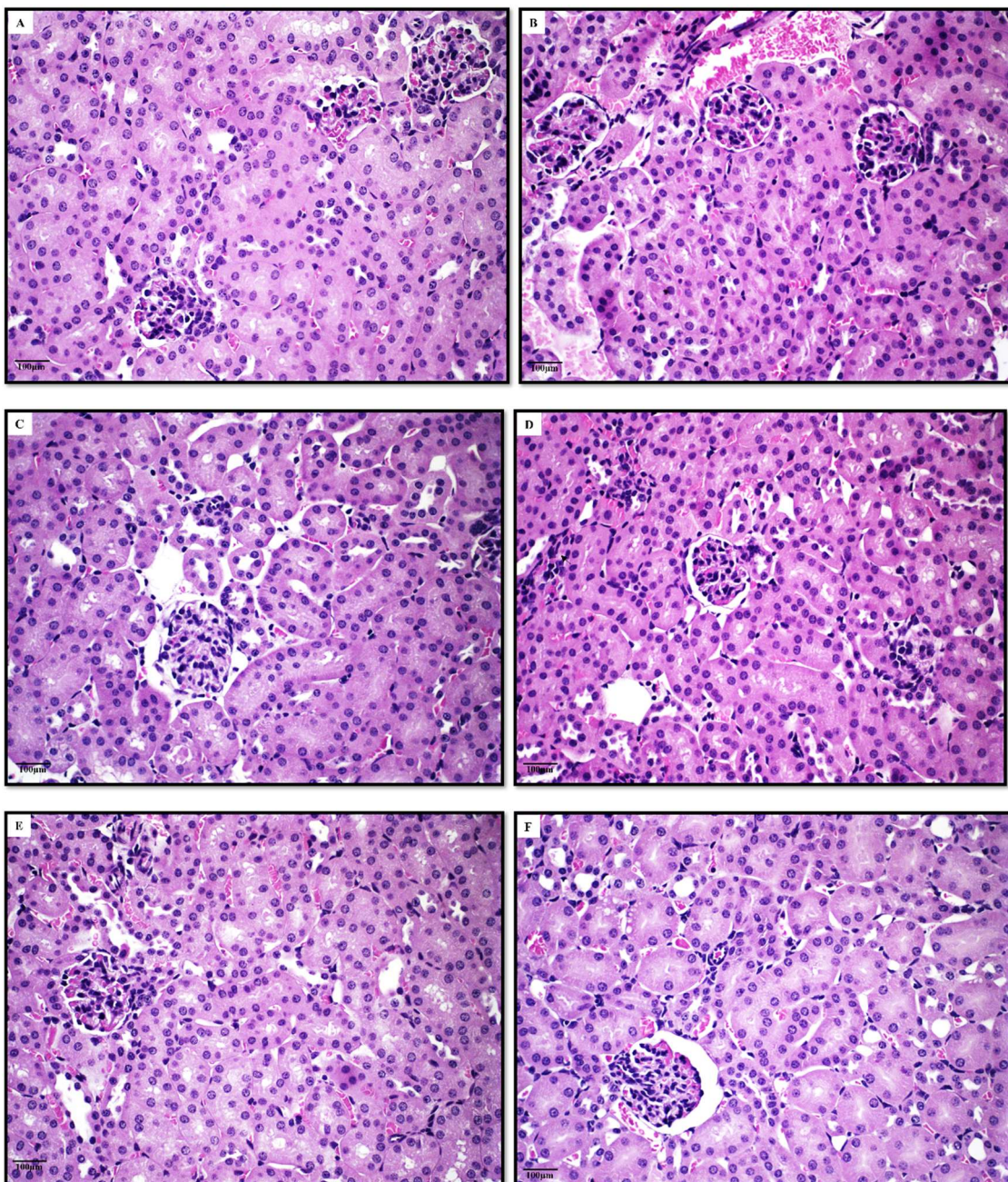


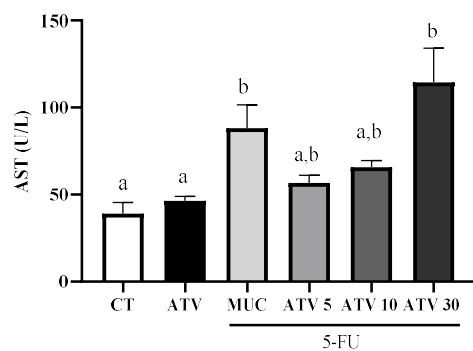
Figura. 2 - Imagens histopatológicas de rins de camundongos: (objetiva $\times 20$, escala 100 μm - CT (a); ATV (b); MUC (c); MUC + ATV 5 mg/kg (d); MUC + ATV 10 mg/kg (e) MUC + ATV 30 mg/kg (f) HE (n=6).

3.2 Biomarcadores hepáticos e renais

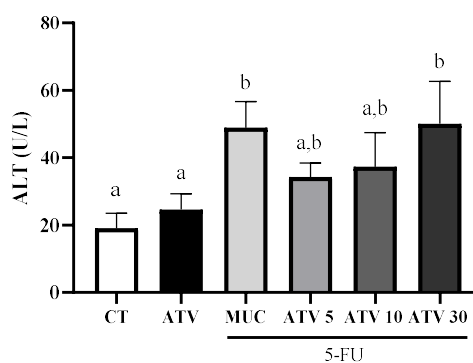
Conforme mostrado na Figura 3 (a, b), os níveis de AST e ALT apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) no grupo MUC e MUC + ATV 30 mg/dL quando comparados ao grupo controle, parcialmente reduzidas nos animais do grupo MUC + ATV 5 e 10 mg/dL ($p > 0,05$). Embora os níveis de GGT (Fig 3c) tenham aumentado significativamente entre os animais que receberam 5-FU, não foram observadas diferenças em GGT entre os

grupos tratados com MUC e ATV ($p > 0,05$). Na Figura 3 (d, e), são mostrados os efeitos do 5-FU nos níveis séricos de uréia e creatinina. O 5-FU aumentou consideravelmente tais marcadores em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) e o tratamento com ATV não alterou os níveis séricos de uréia e creatinina em relação ao grupo MUC ($p > 0,05$).

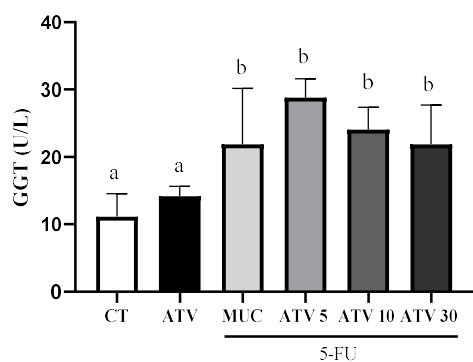
(a)



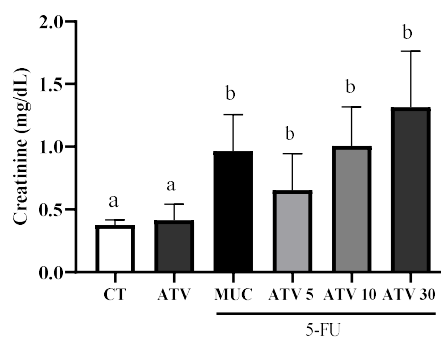
(b)



(c)



(d)



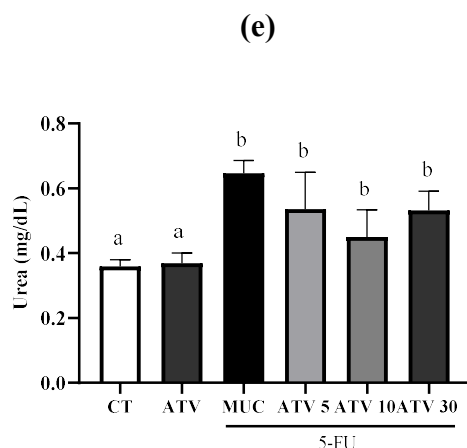
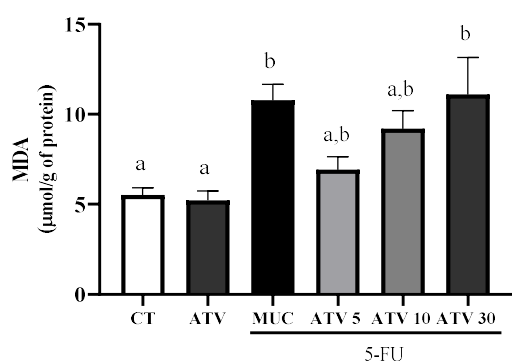


Figura. 3 - Efeito da ATV nos biomarcadores hepáticos e renais (a) AST, (b) ALT, (c) GGT, (d) Creatinina, (e) Uréia (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) por ANOVA seguido pelo pós-teste de Newman-Keuls.

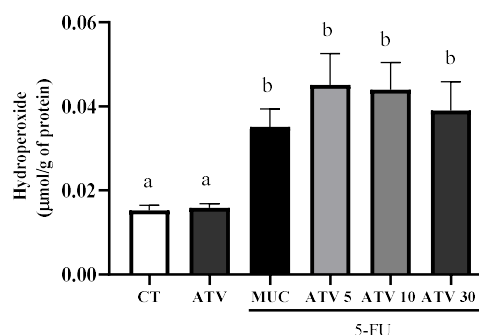
3.3 Estresse oxidativo

A avaliação do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes demonstrou que o 5-FU aumentou significativamente os níveis de MDA em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$). Os níveis de MDA (Fig. 4 a) aumentaram no grupo MUC ($p < 0,05$) e o tratamento com ATV 5 e 10 mg/kg reduziu os níveis de MDA ($P < 0,05$). Os níveis de hidroperóxidos (Fig. 4 b) aumentaram entre os animais que receberam 5-FU ($P < 0,05$) e não foram reduzidos pelo tratamento com ATV em nenhuma das doses. As enzimas antioxidantes SOD (Fig. 4 c) e glutathiona peroxidase (Fig. 4 d) no fígado de todos os grupos foram semelhantes ($P > 0,05$).

(a)



(b)



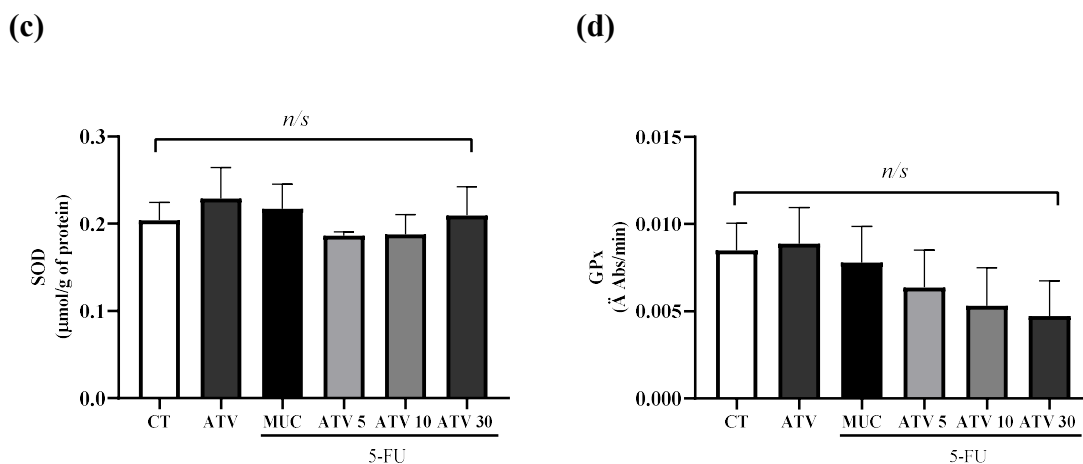
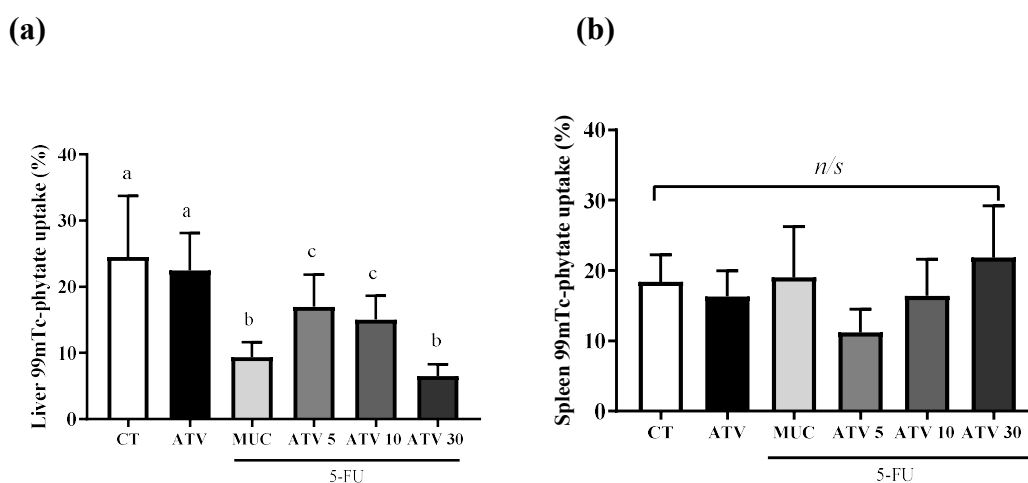


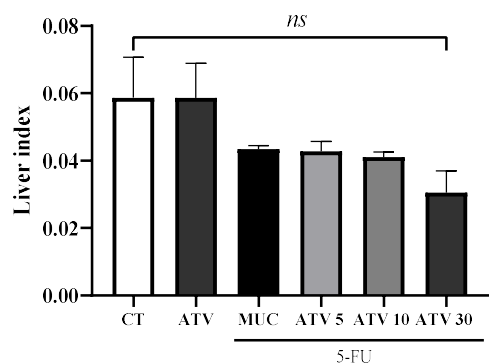
Figura. 4 - Efeitos da ATV no balanço oxidativo nos níveis de (a) MDA, (b) Hidroperóxido, (c) SOD, (d) GPx (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica ausência de diferença estatística ($p > 0,05$). pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.

3.4 Cintilografia hepática com fitato de sódio (^{99m}Tc)

Na análise quantitativa através da avaliação do %ID/g de fitato de sódio (^{99m}Tc) (Fig. 5 a), pode-se observar a redução da captação do radiofármaco no fígado entre os grupos que receberam 5-FU em relação ao controle, enquanto os animais com mucosite que receberam ATV 5 e 10 mg/kg tiveram captação aumentada em relação ao grupo MUC ($p < 0,05$). Aqueles tratados com ATV 30 mg/kg apresentaram captação significativamente reduzida ($p < 0,05$). A %ID/g de fitato de sódio (^{99m}Tc) no baço (Fig. 5 b), de todos os grupos foi semelhante ($P > 0,05$).



(c)



(d)

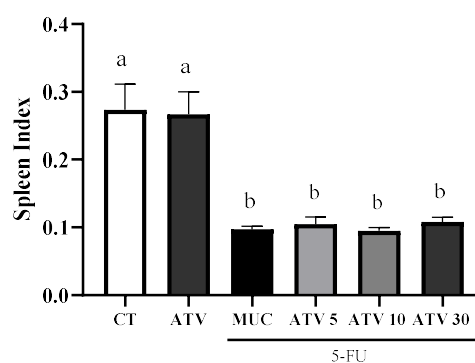


Figura. 5 - Atividade injetada de fitato de sódio (^{99m}Tc) por grama de tecido (%ID/g) e índice massa/fígado (c) massa/baço (d). (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$). por ANOVA seguido do pós-teste de Newman-Keuls.

Os resultados *ex-vivo* se correlacionam com as imagens planares de corpo inteiro *in vivo* de camundongos obtidas 10 min após a injeção de fitato de sódio (^{99m}Tc) (Fig. 6) que demonstram qualitativamente essa redução do radiofármaco na região hepatoesplênica. O índice de baço e fígado foi monitorado para medir a perda de peso do órgão em relação à perda de peso corporal, e a massa do baço foi estatisticamente menor nos animais que receberam 5-FU ($p < 0,05$), o tratamento com ATV não alterou a massa no fígado baço entre os grupos ($P > 0,05$; Fig 5 c,d).

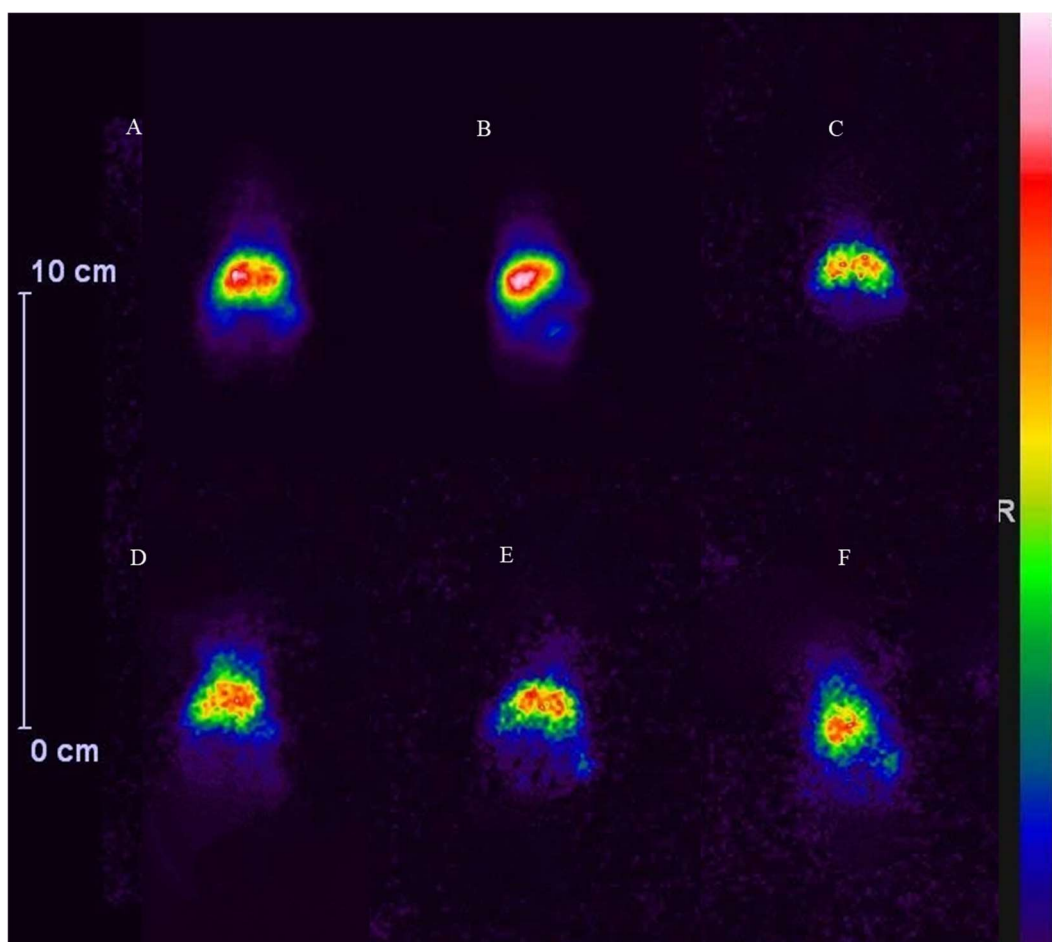
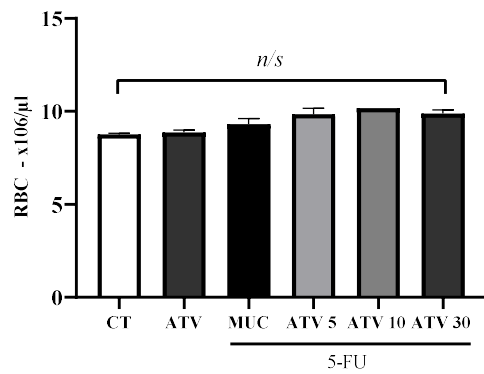


Figura. 6 - Captação do fitato de sódio (^{99m}Tc) na região hepatoesplênica CT (a); ATV (b); MUC (c); MUC + ATV 5 mg/kg (d); MUC + ATV 10 mg/kg (e); MUC + ATV 30 mg/kg (f).

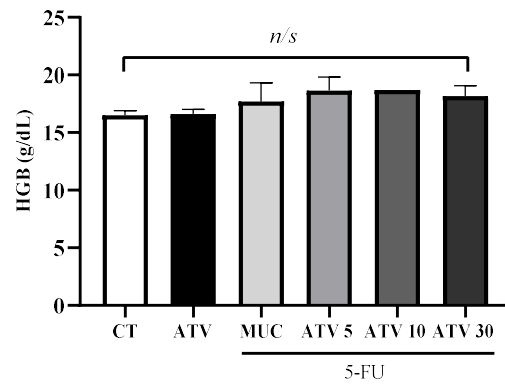
3.5 *Análise dos Parâmetros Hematológicos*

Os elementos eritrócitos (RBC) (fig. 7 a), Hemoglobina (HBG) (fig. 7 b), Hematócrito (HCT) (fig. 7 c), Volume corpuscular médio (MCV) (fig. 7 d), hemoglobina corpuscular média (MCH) (fig. 7 e), concentração da hemoglobina corpuscular média (MCHC) (fig. 7 f) e o índice de anisocitose (RDW-CV) (fig. 7 g), não se alteraram com o uso de 5-FU e ATV ($p > 0,05$). Os animais que receberam 5-FU tiveram uma redução nas plaquetas e o consumo de ATV não modificou esse padrão entre grupos ($p > 0,05$).

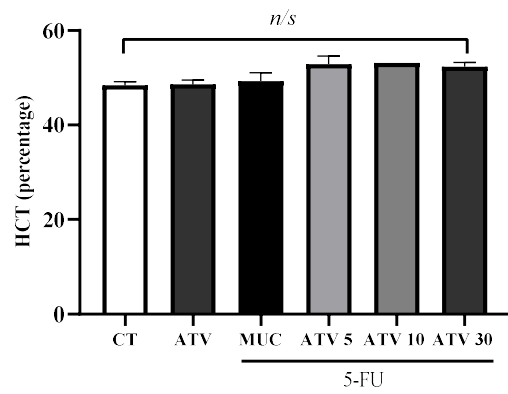
(a)



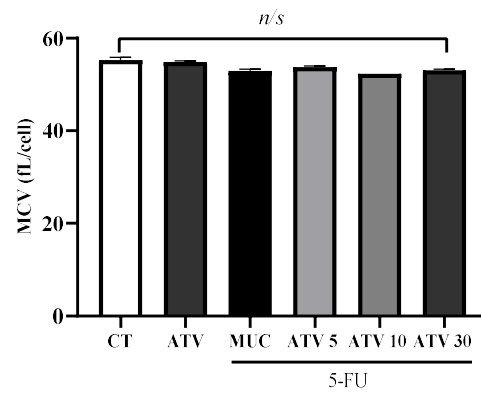
(b)



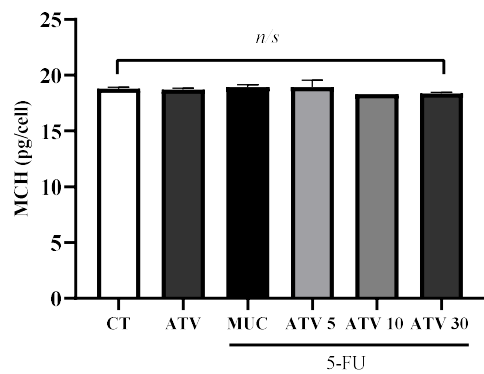
(c)



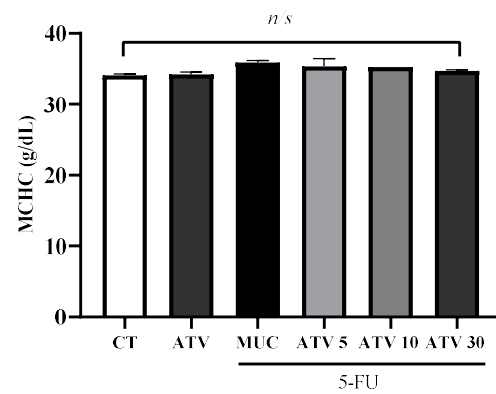
(d)



(e)



(f)



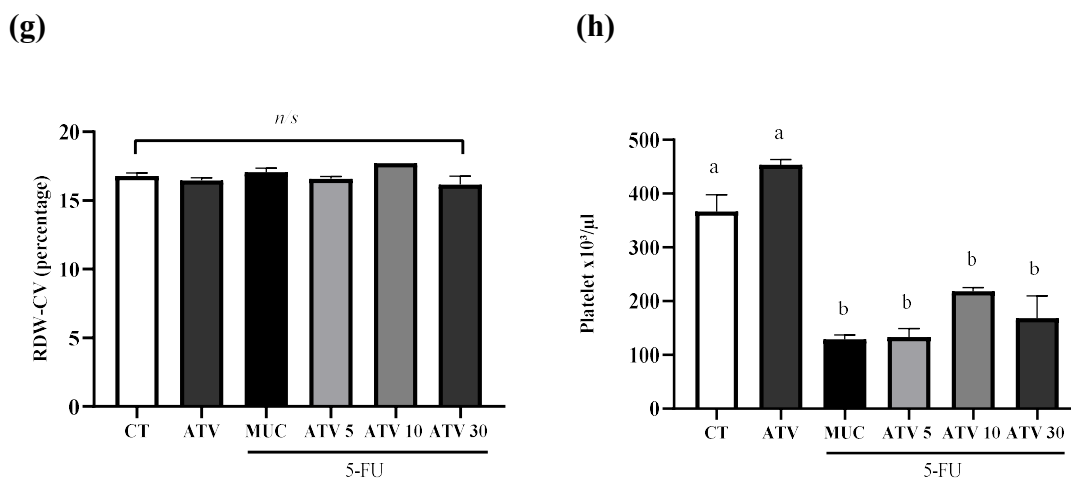


Figura. 7 - Análise hematológica na mucosite induzida por 5-FU em camundongos. (a) RBC, (b) HBG, (c) HCT, (d) MCV, (e) MCH, (f) MCHC, (g) RDW-CV, (H) plaquetas (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica ausência de diferença estatística ($p > 0,05$). pela ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls.

A administração de 5-FU reduziu significativamente o número dos leucócitos (WBC) (Fig. 8a) em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) e o consumo de ATV não gerou diferenças estatísticas consideráveis ($p > 0,05$). A porcentagem de linfócitos aumentou entre os animais que receberam 5-FU ($p > 0,05$) e ATV 5 mg/kg reduziu ($p > 0,05$) em relação ao grupo controle e MUC (Fig. 8b).

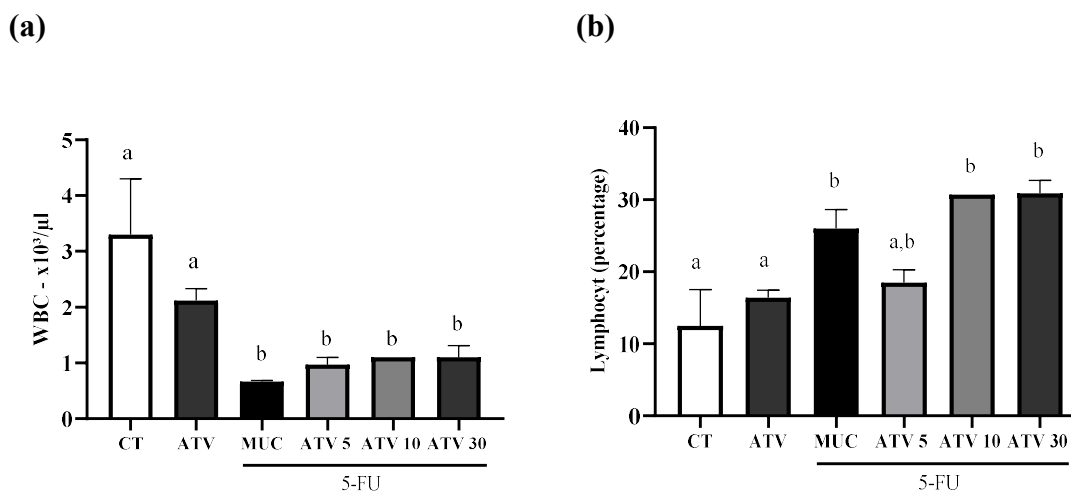


Figura. 8 - Análise de leucócitos na mucosite induzida por 5-FU em camundongos. (a) leucócitos, (b) linfócitos. (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), ns indica nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$). por ANOVA seguido do pós-teste de Newman-Keuls.

4. DISCUSSÃO

Além de exercer seu efeito citotóxico contra o câncer, o 5-FU exerce efeitos citotóxicos por meio de diferentes mecanismos que atuam em nível sistêmico. O fígado é o principal órgão responsável pelo catabolismo do 5-FU e conseqüentemente um importante alvo desta droga (van Kuilenburg, 2004). É no fígado que ocorre a produção de intermediários tóxicos que podem desencadear danos hepáticos (Gelen et al., 2017; Labbe et al., 2008). O real papel do 5-FU na toxicidade hepática ainda é controverso na literatura (Rani et al., 2014). Estudos apontam que a toxicidade hepática é dependente do tempo de administração e da dose dos quimioterápicos (Gelen et al., 2017; Sengul et al., 2021).

Neste trabalho, para avaliar o impacto do 5-FU associado do tratamento com a ATV, a análise histológica do tecido hepático foi realizada, e os resultados demonstraram a presença de vesículas intracitoplasmáticas nos hepatócitos, compatíveis com degeneração hidrópica, sugerindo hepatotoxicidade intrínseca. Tal quadro, entretanto, é frequentemente observado em modelos de administração intraperitoneal de 5-FU (Björnsson et al., 2012). A degeneração hidrópica está correlacionada ao desequilíbrio intracelular iônico e a homeostasia de fluidos, que ocorre em função de falha nas bombas dependentes de energia das membranas celulares. Neste sentido, nossos achados se correlacionam com os dados de Abou-Zeid e colaboradores (2014) que apresentam a partir da análise ultra-estrutural dos hepatócitos de ratos tratados com 5-FU a presença de degeneração celular. Tais alterações provavelmente são atribuídas à desestruturação da membrana celular por meio da peroxidação lipídica, que tem relação com a presença aumentada de ROS e a diminuição nos níveis de antioxidantes plasmáticos decorrentes da exposição ao 5-FU (Du et al., 2023; Gelen et al., 2018). Esses dados de fato se correlacionam com os achados presente trabalho, que demonstraram o aumento ($p < 0,05$) de MDA e hidroperóxidos após a administração de 5-FU (Fig. 4 a, b). Vale ressaltar que o acúmulo de hidroperóxidos na membrana celular promove uma disfunção na permeabilidade e seletividade da membrana levando a alterações na homeostase do volume celular e no metabolismo celular. Trabalhos também demonstraram que o fígado dos camundongos que receberam o 5-FU sofreram degeneração hidrópica da maioria das células hepáticas após quatro dias do recebimento da dose inicial. Contudo, a literatura relata que a regeneração dos tecidos hepáticos é rapidamente restaurada em 1 a 6 meses após a cessação da exposição ao regime citotóxico (Bolego et al., 2002; Cohen et al., 2006).

Adicionalmente, relatos na literatura apontam lesão hepática decorrente da utilização das estatinas (Bolego et al., 2002; Cohen et al., 2006). Nossos dados apontam que o consumo da ATV 5 e 10 mg/kg reduziu os níveis de AST e ALT e não alterou os níveis de GGT. Entretanto, sabe-se que todas as estatinas em doses elevadas podem induzir ao aumento das transaminases séricas, que inclusive foi observado em nossas investigações, no grupo MUC tratado com ATV 30 mg/kg. No presente estudo, observamos que, de fato, a ATV em doses adequadas apresenta atividade antioxidante, quando as concentrações de 5 e 10 mg/kg de ATV, reduziram os níveis de MDA ($p < 0,05$), enquanto a concentração de 30 mg/kg de ATV elevou os níveis de MDA ($p < 0,05$) para valores semelhantes ao grupo mucosite. Pal e colaboradores (2015) relataram que administração atorvastatina altas doses, como 30 e 50 mg/kg, por exemplo, causou estresse oxidativo e dano ao tecido hepático de maneira dependente da dose, juntamente com o aumento dos níveis de AST e ALT (Pal et al., 2015). Com relação a atividade da SOD e GPx hepáticas, importantes enzimas antioxidantes endógenas que foram avaliadas neste trabalho, não foram observadas diferenças entre os grupos analisados, embora dados da literatura apontem a redução dessas enzimas mediante ao uso do 5-FU (Gelen et al., 2018).

A hepatotoxicidade também foi monitorada usando técnicas de medicina nuclear pela cintilografia com o fitato de sódio (^{99m}Tc), um radiofármaco que é utilizado para imagens hepatoesplênicas. Nossos resultados mostraram que o 5-FU reduziu significativamente a captação hepática de fitato de sódio (^{99m}Tc) do grupo MUC em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). O fitato de sódio (^{99m}Tc) é um radiofármaco amplamente utilizado na medicina nuclear, a sua biodistribuição quando administrado por via venosa é caracterizada pela captação no fígado e no baço pelo sistema reticuloendotelial que desempenha um papel importante na defesa biológica constituída principalmente pelas células de Kupffer. No entanto, o sistema reticuloendotelial pode ter a sua função prejudicada após o uso de quimioterápicos (Amirfakhrian et al., 2018; Papachristou et al., 2022). Após a administração intravenosa, o fitato de sódio (^{99m}Tc) liga-se aos íons de cálcio e formam partículas coloidais que são capturadas, principalmente pelas células de Kupffer. A quantidade de captação do radiofármaco pelo sistema reticuloendotelial depende tanto das taxas relativas de fluxo sanguíneo quanto da capacidade funcional das células fagocíticas (Amirfakhrian et al. 2018; Shahani et al. 2023). As análises de cintilografia hepática *in vivo* e *ex-vivo* no contador gama mostraram que o 5-FU reduz a atividade ou número das células de Kupffer no fígado, essas células

captaram menor quantidade do radiofármaco e, conseqüentemente, a %ID/g de fígado foi reduzida no grupo MUC. Os resultados atuais demonstraram e que o tratamento com ATV 5 e 10 mg/kg foi capaz de reduzir tal lesão celular devido ao aumento da captação do fitato de sódio (^{99m}Tc) na região hepática ($p < 0,05$). No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os animais MUC e aqueles que receberam ATV 30 mg/kg ($P > 0,05$).

Poucos estudos na literatura mencionam sobre a toxicidade esplênica causada pelo 5-FU. Embora alguns trabalhos apontem a apoptose de esplenócitos mediante a terapia em bolus com a quimioterapia, entretanto este tema é bastante controverso (Eichhorst et al., 2001). Foi observado neste trabalho, e é normalmente relatado na literatura, a perda da massa do baço após o tratamento com o 5-FU, com redução em mais de 50% do peso do baço em comparação com os animais que não tratados (Zhao et al., 2015). Os possíveis mecanismos relacionados com a perda da massa esplênica, podem estar diretamente ligados ao processo inflamatório causado pelo 5-FU. Estudos realizados em modelo de queimadura, correlacionam o pico TNF- α e NF- κ B com o mesmo período de da apoptose máxima no baço, sugerindo que o TNF- α e NF- κ B são potencializadores da apoptose esplênica (Abou-Zeid, 2014; Gelen et al., 2018). Neste trabalho, foi evidente o papel do 5-FU na perda da massa baço nos grupos experimentais ($P < 0,05$), e a ATV não promoveu a melhora do quadro dos animais. De forma contrária, estudos que avaliaram a atividade das estatinas contra a apoptose esplênica em modelo de sepse e inflamação demonstraram resultados positivos (King e Perry 2001). Contudo, de acordo com o sugerido por Rani e colaboradores (2014), também acreditamos que a perda de massa esplênica ocorrida no presente estudo, pode também ter correlação com a forte imunossupressão causada pelo 5-FU (Rani et al., 2014). Além disso, não observamos diferenças na captação de fitato de sódio (^{99m}Tc) na cintilografia *ex vivo* entre os grupos analisados ($p > 0,05$), divergindo dos dados disponíveis na literatura, na qual Shahani e colaboradores observaram a redução da captação do fitato de sódio (^{99m}Tc) em baço de ratos tratados com metrotexato (Shahani et al., 2023).

A toxicidade renal é um efeito colateral comum da quimioterapia com o 5-FU (Yousef & Aboelwafa, 2017). Os resultados obtidos no presente estudo, demonstraram leves alterações histológicas dos rins entre os animais que receberam 5-FU em relação ao grupo controle. Foi observado uma leve congestão glomerular que pode ser visualizada pelo aumento espaço de Bowman, indicando discreta retração glomerular entre os animais do

grupo MUC. Também observamos leve degeneração hidrópica nas células epiteliais tubulares. Tais achados estão em convergência com os resultados disponíveis na literatura que demonstram degeneração e apoptose celular pelo 5-FU (Gelen et al., 2017). Alguns autores têm mencionado o potencial nefrotóxico deste quimioterápico a partir da formação α -fluoro- β -alanina, amônia, uréia e dióxido de carbono devido ao catabolismo do 5-FU em di-hidrouracil no fígado, promovendo nefrotoxicidade. A literatura também menciona o estresse oxidativo causado pelo 5-FU que promove a peroxidação lipídica celular e consequente apoptose de células renais (Rashid et al., 2013, 2014; Yousef & Aboelwafa, 2017). A ureia e a creatinina estão entre os marcadores mais proeminentes da função renal. Nossos resultados demonstraram aumento significativo dos níveis desses marcadores entre os grupos que receberam 5-FU ($P < 0,05$), que retrata a redução capacidade renal de ultrafiltração, visto que é uma via de eliminação para esta droga e seus metabólitos (Gelen et al., 2021). O tratamento com a ATV em nenhuma das doses modificou tal quadro, apesar de relatos na literatura apontarem um papel positivo da ATV contra a toxicidade induzida por doxorrubicina (DOX) no rim e fígado de ratos (von Bültzingslöwen et al., 2003). Nossos resultados contrastam com relatos da literatura que retratam efeito protetor aos rins devido a atividade hipolipemiante, uma vez que o declínio na taxa de filtração glomerular pode ocorrer pela dislipidemia e as estatinas demonstraram claramente um efeito de melhoria no perfil dislipidêmico. Estudos clínicos indicam que a terapia com estatina retarda o declínio da taxa de filtração glomerular e reduz a proteinúria em pacientes com doença renal crônica (El-Moselhy & El-Sheikh, 2014; Jaikumkao et al., 2016).

A administração contínua de drogas quimioterápicas como o 5-FU estão correlacionadas com leucopenia e atrofia de órgãos hematopoiéticos. Nesta investigação, observamos que o 5-FU reduziu o número total de leucócitos circulantes no sangue e ATV não reverteu esse quadro. No entanto, os relatos na literatura são controversos, Medeiros e colaboradores observaram em um modelo de mucosite oral que a ATV de 5 mg/kg aumentou a leucopenia, neutropenia e linfopenia nos animais que receberam 5-FU (C. A. C. X. Medeiros et al., 2011), enquanto Campos e colaboradores observaram que a injeção intraperitoneal de ATV de 10 mg/kg por 10 dias foi capaz de reverter a leucopenia em um modelo quimioterápico com o 5-FU (Campos et al., 2015). Os achados desse estudo, também mostraram a ocorrência da trombocitopenia após a administração IP de 5-FU. No entanto, tal trombocitopenia não foi modificada com o tratamento com a ATV ,

embora relatos na literatura apontem efeito benéfico da ATV no tratamento de trombocitopenia (Kojima et al., 2003), que incluem a melhora quantitativa e funcionalidade e atividade de células progenitoras endoteliais da medula óssea que desempenham um papel crucial na regulação da megacariocitopoiese (Y. Kong et al., 2018). Apesar da redução nos índices de células vermelhas está entre os efeitos colaterais mais comuns e prejudiciais do 5-FU, em nossas investigações não observamos diferenças nos valores de RBC, HBG, HCT, MCV, MCH, MCHC e RDW. Tais resultados divergem do que é normalmente relatado na literatura, porém os protocolos disponíveis na literatura são longos e evidenciam a depleção eritrocitária e medular tardiamente após os 10 dias de ciclos de administração do 5-FU, enquanto o nosso protocolo consiste em um período mais curto de 5 dias (Kojima et al., 2003).

5. CONCLUSÃO

Os achados do presente estudo indicam que o 5-FU induziu alterações bioquímicas, histopatológicas e funcionais nos hepatócitos de camundongos. O tratamento com a ATV nas doses de 5 e 10 mg/kg teve um papel protetor do fígado, reduzindo os níveis de AST e ALT e aumentando a funcionalidade hepática que pode ser retratada pela melhoria da captação do radiofármaco fitato de sódio (^{99m}Tc). Entretanto, administração ATV na dose de 30 mg/kg gerou um aumento do estresse oxidativo e o risco de toxicidade hepática. Portanto, o uso da ATV como alternativa no controle da mucosite pode minimizar os efeitos colaterais tóxicos do 5-FU se utilizada em doses clínicas adequadas não causa sobrecarga hepática. A associação da ATV com o 5-FU não promoveu exacerbação da toxicidade renal e hematológica promovida pelo 5-FU.

CONTRIBUIÇÕES

Contextualização: Kátia Duarte Vital; Flaviano Santos Martins; Valbert Nascimento Cardoso; Simone Odília Antunes Fernandes; **Metodologia:** Kátia Duarte Vital, Luiz Octávio Pires; Janayne Luihan Silva; Jorge Lucas Nascimento Souza; Ênio Ferreira; **Análise e investigação:** Kátia Duarte Vital; Janayne Luihan Silva; Jorge Lucas Nascimento Souza; Ênio Ferreira **Escrita do paper:** Kátia Duarte Vital; **Revisão e edição:** Jacqueline Alvarez-Leite; Lilian Lacerda Bueno; Enio Ferreira; Flaviano Santos Martins; Valbert Nascimento Cardoso; Simone Odília Antunes Fernandes **Supervisão:** Simone Odília Antunes Fernandes; **Financiamento:** Simone Odília Antunes Fernandes, Valbert Nascimento Cardoso and Flaviano Santos Martins.

*Todos os autores aprovaram o manuscrito final.

Financiamento: Os autores agradecem a Pró-Reitoria de Pesquisa - Universidade Federal de Minas Gerais, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Simone Odília Antunes Fernandes foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Minas Gerais Network for Pesquisa Translacional em Imunobiológicos e Biofarmacêuticos no Câncer - REMITRIBIC, RED-00031-21, APQ-00056-18, e APQ-00593-14). Kátia Duarte Vital agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não ter conflitos e interesse.

Consentimento para a publicação: Todos os autores estão coniventes com a publicação deste artigo.

Disponibilidade de dados: Os dados do estudo atual estão disponíveis no autor correspondente mediante solicitação.

Aprovação Ética: O estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pelo Comitê Local de Ética Experimental Animal (CEUA-UFMG) (Protocolo nº 266/2019).

REFERENCIAS

1. Abou-Zeid, N. R. A. (2014). Ameliorative effect of vitamin C against 5-fluorouracil-induced hepatotoxicity in mice: A light and electron microscope study. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 67(4), 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2013.12.004>
2. Amirfakhrian, H., Abedi, S. M., Sadeghi, H., Azizi, S., & Hosseinimehr, S. J. (2018). The use of ^{99m}Tc-phytate for assessment the protective effect of vitamin E against hepatotoxicity induced by methotrexat in rat. *Nuclear Medicine Review*, 21(1), 8–13. <https://doi.org/10.5603/NMR.a2018.0006>
3. Björnsson, E., Jacobsen, E. I., & Kalaitzakis, E. (2012). Hepatotoxicity associated with statins: Reports of idiosyncratic liver injury post-marketing. *Journal of Hepatology*, 56(2), 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.07.023>
4. Bolego, C., Baetta, R., Bellosta, S., Corsini, A., & Paoletti, R. (2002). Safety considerations for statins. *Current Opinion in Lipidology*, 13(6), 637–644. <https://doi.org/10.1097/00041433-200212000-00007>
5. Campos, M. I., Wellington Dorigheto Andrade Vieira, Celso Neiva Campos, Fernando Monteiro Aarestrup, & Beatriz Julião Vieira Aarestrup. (2015). Atorvastatin and trans-caryophyllene for the prevention of leukopenia in an experimental chemotherapy model in Wistar rats. *Mol Clin Oncol.*, 3(4), 825–828.
6. Cohen, D. E., Anania, F. A., & Chalasani, N. (2006). An Assessment of Statin Safety by Hepatologists. *The American Journal of Cardiology*, 97(8), S77–S81. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.12.014>
7. Du, K., Wang, L., Wang, Z., Xiao, H., Hou, J., Hu, L., Fan, N., & Wang, Y. (2023). Angelica Sinensis polysaccharide antagonizes 5-Fluorouracil-induced spleen injury and dysfunction by suppressing oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162, 114602. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114602>
8. Eichhorst, S. T., Mürköster, S., Weigand, M. A., & Krammer, P. H. (2001). The chemotherapeutic drug 5-fluorouracil induces apoptosis in mouse thymocytes in vivo via activation of the CD95(APO-1/Fas) system. *Cancer Research*, 61(1), 243–248.

9. El-Moselhy, M. A., & El-Sheikh, A. A. K. (2014). Protective mechanisms of atorvastatin against doxorubicin-induced hepato-renal toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 68(1), 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2013.09.001>
10. Gelen, V., Şengül, E., Gedikli, S., Atila, G., Uslu, H., & Makav, M. (2017). The protective effect of rutin and quercetin on 5-FU-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 647–653. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.013>
11. Gelen, V., Şengül, E., Yıldırım, S., & Atila, G. (2018). The protective effects of naringin against 5-fluorouracil-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(4), 404–410. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.27510.6714>
12. Gelen, V., Şengül, E., Yıldırım, S., Senturk, E., Tekin, S., & Kükürt, A. (2021). The protective effects of hesperidin and curcumin on 5-fluorouracil-induced nephrotoxicity in mice. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(34), 47046–47055. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13969-5>
13. Jaikumkao, K., Pongchaidecha, A., Thongnak, L., Wanchai, K., Arjinajarn, P., Chatsudthipong, V., Chattipakorn, N., & Lungkaphin, A. (2016). Amelioration of Renal Inflammation, Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis Underlies the Protective Effect of Low Dosage of Atorvastatin in Gentamicin-Induced Nephrotoxicity. *PLOS ONE*, 11(10), e0164528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164528>
14. Kojima, S., Takaba, K., Kimoto, N., Takeda, T., Kakuni, M., Mizutani, M., Suzuki, K., Sato, H., & Hara, T. (2003). Protective effects of glutathione on 5-fluorouracil-induced myelosuppression in mice. *Archives of Toxicology*, 77(5), 285–290. <https://doi.org/10.1007/s00204-003-0448-9>
15. Kong, Y., Cao, X.-N., Zhang, X.-H., Shi, M.-M., Lai, Y.-Y., Wang, Y., Xu, L.-P., Chang, Y.-J., & Huang, X.-J. (2018). Atorvastatin enhances bone marrow endothelial cell function in corticosteroid-resistant immune thrombocytopenia patients. *Blood*, 131(11), 1219–1233. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-807248>
16. Labbe, G., Pessayre, D., & Fromenty, B. (2008). Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 22(4), 335–353. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2008.00608.x>

17. Medeiros, C. A. C. X., Leitão, R. F. C., Macedo, R. N., Barboza, D. R. M. M., Gomes, A. S., Nogueira, N. A. P., Alencar, N. M. N., Ribeiro, R. A., & Brito, G. A. C. (2011). Effect of atorvastatin on 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67(5), 1085–1100. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1409-7>
18. Pal, S., Ghosh, M., Ghosh, S., Bhattacharyya, S., & Sil, P. C. (2015). Atorvastatin induced hepatic oxidative stress and apoptotic damage via MAPKs, mitochondria, calpain and caspase12 dependent pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.05.016>
19. Papachristou, M., Priftakis, D., Xanthopoulos, S., Datsaris, I., & Bouziotis, P. (2022). Biodistribution of intravenous [99mTc]Tc-phytate in mouse models of chemically and foreign-body induced sterile inflammation. *American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 12(3), 91–98.
20. Rani, I., Vaiphei, K., & Agnihotri, N. (2014). Supplementation of fish oil augments efficacy and attenuates toxicity of 5-fluorouracil in 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride/dextran sulfate sodium-induced colon carcinogenesis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 74(2), 309–322. <https://doi.org/10.1007/s00280-014-2497-6>
21. Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S. T., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2013). Abrogation of 5-flourouracil induced renal toxicity by bee propolis via targeting oxidative stress and inflammation in Wistar rats. *Journal of Pharmacy Research*, 7(2), 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.03.003>
22. Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2014). Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 66, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.01.026>
23. Sengul, E., Gelen, V., Yildirim, S., Tekin, S., & Dag, Y. (2021). The Effects of Selenium in Acrylamide-Induced Nephrotoxicity in Rats: Roles of Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and DNA Damage. *Biological Trace Element Research*, 199(1), 173–184. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02111-0>
24. Shahani, S., Mehraban, N., Talebpour Amiri, F., Abedi, S. M., Noaparast, Z., & Mohammadinia, S. (2023). *Melissa Officinalis* L. aqueous extract pretreatment decreases methotrexate-induced hepatotoxicity at lower dose and increases 99mTc-phytate liver uptake, as a probe of liver toxicity assessment, in rats. *Annals*

- of Nuclear Medicine, 37(3), 166–175. <https://doi.org/10.1007/s12149-022-01813-w>
25. van Kuilenburg, A. B. P. (2004). Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *European Journal of Cancer*, 40(7), 939–950. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2003.12.004>
26. von Bültzingslöwen, I., Adlerberth, I., Wold, A. E., Dahlén, G., & Jontell, M. (2003). Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria. *Oral Microbiology and Immunology*, 18(5), 278–284. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2003.00075.x>
27. Yousef, H. N., & Aboelwafa, H. R. (2017). The potential protective role of taurine against 5-fluorouracil-induced nephrotoxicity in adult male rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(5), 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2017.01.012>
28. Zhao, G., Yu, Y.-M., Kaneki, M., Bonab, A. A., Tompkins, R. G., & Fischman, A. J. (2015). Simvastatin Reduces Burn Injury-induced Splenic Apoptosis via Downregulation of the TNF- α /NF- κ B Pathway. *Annals of Surgery*, 261(5), 1006–1012. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000764>

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Efeito enteroprotetor das estatinas: um reposicionamento para a mucosite entérica induzida por 5-FU ", protocolo do CEUA: 266/2019 sob a responsabilidade de Simone Odília Antunes Fernandes que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 18/11/2019.

Vigência da Autorização	18/11/2019 a 17/11/2024
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Camundongo isogênico / Camundongo Balb/c
Nº de animais	30
Peso/Idade	20g / 4(semanas)
Sexo	masculino
Origem	Biotério central UFMG
*Espécie/linhagem	Camundongo isogênico / Camundongo Balb/c
Nº de animais	30
Peso/Idade	20g / 4(semanas)
Sexo	masculino
Origem	Biotério Central UFMG
*Espécie/linhagem	Camundongo isogênico / Camundongo balb/c
Nº de animais	30
Peso/Idade	20g / 4(semanas)
Sexo	masculino
Origem	Biotério central UFMG
*Espécie/linhagem	Camundongo isogênico / Camundongo balb/c
Nº de animais	30
Peso/Idade	20g / 4(semanas)
Sexo	masculino
Origem	Biotério central UFMG
*Espécie/linhagem	Camundongo isogênico / Camundongo balb/c
Nº de animais	30
Peso/Idade	20g / 4(semanas)
Sexo	masculino
Origem	Biotério central UFMG

Considerações posteriores:

18/11/2019	Aprovado na reunião do dia 18/11/2019. Validade:
------------	--