



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**  
**DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**MARCOS AURÉLIO DE SOUSA LIMA**

**DISMOTILIDADE GASTRINTESTINAL NA MUCOSITE INDUZIDA POR 5-  
FLUOROURACIL: PAPEL DOS MACRÓFAGOS E MASTÓCITOS VIA  
SEROTONINA**

**FORTALEZA – CEARÁ**  
**2021**

MARCOS AURÉLIO DE SOUSA LIMA

DISMOTILIDADE GASTRINTESTINAL NA MUCOSITE INDUZIDA POR 5-  
FLUOROURACIL: PAPEL DOS MACRÓFAGOS E MASTÓCITOS VIA  
SEROTONINA

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito final para obtenção do título de doutor em Ciências Fisiológicas. Área de Concentração: Ciências Fisiológicas.

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares

FORTALEZA – CEARÁ

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Estadual do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Lima, Marcos Aurelio de Sousa.

Dismotilidade gastrintestinal na mucosite induzida por 5-fluorouracil: papel dos macrófagos e mastócitos via serotonina [recurso eletrônico] / Marcos Aurelio de Sousa Lima. - 2021.

129 f. : il.

Tese (DOUTORADO ACADÊMICO) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Curso de Programa de Pós-graduação Em Ciências Fisiológicas - Doutorado, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares.

1. 5-Fluorouracil. 2. Mucosite intestinal. 3. Dismotilidade. 4. Serotonina. 5. Macrófagos. 6. Mastócitos.. I. Título.

MARCOS AURÉLIO DE SOUSA LIMA

DISMOTILIDADE GASTRINTESTINAL NA MUCOSITE INDUZIDA POR 5-  
FLUOROURACIL: PAPEL DOS MACRÓFAGOS E MASTÓCITOS VIA  
SEROTONINA

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito final para obtenção do título de doutor em Ciências Fisiológicas. Área de Concentração: Ciências Fisiológicas.

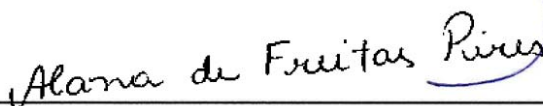
Aprovada em: 14 de janeiro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC



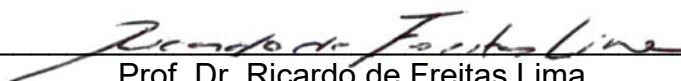
---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Alana de Freitas Pires  
Centro Universitário Estácio do Ceará – ESTÁCIO/FIC



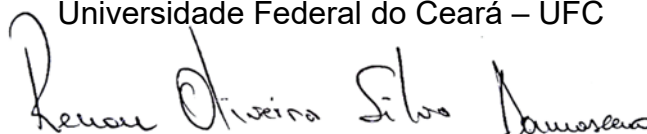
---

Prof. Dr. Emanuel Prata de Souza  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Prof. Dr. Renan Oliveira Silva Damasceno  
Universidade Federal do Pernambuco – UFPE

À Deus, pois sem sua permissão nada é possível, e Ele jamais nos dá um fardo maior do que possamos carregar. Sua graça e misericórdia para conosco é imensurável.

Aos meus pais, Elpídio e Rosalva, que sempre me incentivaram e me ensinaram a buscar de forma honesta meus sonhos, as minhas irmãs, Ana Cristina, Patrícia, Marta e a minha namorada Yanka que sempre me apoiaram e serviram de alicerce.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares, que sempre com muita sabedoria e experiência me guiou pelo caminho mais ideal para concretização dessa pesquisa, direcionando as melhores escolhas experimentais, apontando os melhores embasamentos científicos e, principalmente, por ter delegado a mim sua confiança na realização dessa pesquisa. Sem, contudo, nunca se abster da amizade e compreensão para os problemas pessoais que surgiram ao longo dessa jornada.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima, sua contribuição intelectual e técnica foi fundamental para meu crescimento científico e realização de todo meu trabalho ao longo do mestrado e doutorado. Muito obrigado Prof. Dr. Ricardo, pela sua disponibilidade em tirar dúvidas e ensinar muito bem a eletrofisiologia, seu compromisso e sabedoria com a pesquisa são instigantes.

Aos membros da banca examinadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Alana Freitas Pires, Prof. Dr. Emmanuel Prata de Souza, Prof. Dr. Renan Oliveira Silva e Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima, muito obrigado pela disponibilidade em participar da banca, e pelas considerações grandiosas que possibilitarão expandir os horizontes de nossa pesquisa.

À Sarah Leyenne, outrora aluna de iniciação científica, sou muito grato por sua parceira, por cada experimento de contratilidade que realizamos, fosse chuva ou sol, por cada ida e vinda ao NEMPI e NPDM, trabalhamos incansavelmente e por muito tempo, muito obrigado, sem sua ajuda não teria sido possível.

Aos meus grandes parceiros de experimentos e amigos Tiago Santos e Ronaldo Farias, que desde o mestrado me acompanharam e deram seu máximo em me ajudar. Hoje amigos que levarei para toda a vida.

A todos meus amigos do Leffag, que fizeram do laboratório minha segunda casa, e constituem hoje minha segunda família. Todos esses anos vocês foram cruciais para minha pesquisa e vida pessoal, servindo de base e inspiração. Em especial as minhas amigas Patrícia, Kaira, Samara, Deysen, Fabrícia, Cecília e Priscilla, e aos meus amigos Álvaro, Thiago, Genilson, Carlos, Humberto, João e Juan, sintam-se todos fortemente abraçados, sempre será uma honra está na presença de todos vocês.

Ao meu amigo Jefferson, que sempre esteve no laboratório contagiando a todos com sua alegria e felicidade, trazendo leveza mesmo aos momentos mais delicados.

Aos técnicos de Morfologia do NEMPI, Júnior e Flávia, muito obrigado por toda ajuda e paciência na confecção de todos os pedidos de lâminas e processamento das amostras.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia em nome do Prof. Dr. Ariclécio Cunha de Oliveira, e em especial a Ecila, que sempre atendeu muito bem todos os alunos do programa e destinou todo tempo necessário, muito obrigado pela atenção, agilidade e solicitude nos atendimentos burocráticos do programa.

As agências de fomento de pesquisa pelo fornecimento de insumos e custeio de material de pesquisa e tecnológico, Cnpq, Funcap e em especial a CAPES pela bolsa concedida a mim, possibilitando continuar na busca pelo doutorado.

“Tudo Posso Naquele Que Me Fortalece:  
Jesus Cristo”.  
Filipenses 4:13.



## RESUMO

A dismotilidade gastrintestinal é a principal alteração fisiológica da mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil, ocasionando efeitos colaterais tais como a dispepsia, disfagia e diarreia. A serotonina é crucial para a fisiopatologia da mucosite e dismotilidade intestinal, pois os antagonistas dos receptores de serotonina são eficazes no tratamento desses efeitos colaterais. Sendo os macrófagos e mastócitos são pilares na inflamação intestinal e produção de serotonina. Nessa perspectiva, esse projeto tem como objetivo avaliar a participação da 5-HT, macrófagos e mastócitos na contratilidade gastrintestinal durante a mucosite induzida por 5-FU em camundongos *Swiss*. Para tanto, utilizou-se camundongos *Swiss* machos (25-30g). No primeiro momento, uma amostra de animais foi dividida em dois grupos: 5-FU (450mg/kg, i.p., dose única) e salina. Parte dos animais do grupo 5-FU e salina foram eutanaziados no 3º dia, e o restante no 15º dia. Os segmentos de fundo do estômago e jejuno foram coletadas após eutanásia para avaliação histopatológica, morfométrica e atividade de MPO. Foi avaliada a contratilidade dos segmentos na presença 5-HT; 5-HT + TTX; 5-HT + hexametônio; 5-HT + Krebs  $0Ca^{+2}$  com EGTA (0,05mM) e EGTA (0,5mM); e 5-HT + nifedipina. Posteriormente, uma segunda amostra de animais foi submetida a lavagem peritoneal, ou administração do composto 48/80, e divididos nos grupos 5-FU e salina, eutanasiados no 3º dia, ou 15º dia. As amostras do fundo de estômago e jejuno foram coletadas e submetidas a contagem de mastócitos, dosagem de 5-HT por HPLC, e resposta contrátil a 5-HT. Os resultados obtidos apontam que no 3º dia após a administração do 5-FU não foi detectado processo inflamatório no fundo de estômago, enquanto no jejuno ocorre aumento dos escores histopatológicos, diminuição da altura dos vilos, aumento da profundidade das criptas, redução da razão vilo/cripta, infiltração neutrofílica, e aumento dos níveis de 5-HT. No 15º dia após administração de 5-FU não ocorre processo inflamatório. A hipercontratilidade em resposta a 5-HT está presente no fundo de estômago e jejuno. Mas, o uso de TTX e hexametônio promove uma redução na contratilidade por 5-HT, que é ainda mais significativa com Krebs  $0Ca^{+2}$  + EGTA (0,05mM). Enquanto a hipercontratilidade por 5-HT é abolida na presença de Krebs  $0Ca^{+2}$  + EGTA (0,5mM) e nifedipina. A depleção dos macrófagos antes da indução da mucosite, promove a redução da MPO e da contratilidade no fundo de estômagos e jejuno no 3º e 15º dia, enquanto os níveis de 5-HT estava diminuído apenas no 3º dia. Nos animais pré-tratados com composto

48/80, a MPO e contratilidade foram reduzidos no 3º e 15º dias após a indução da mucosite e o nível de 5-HT está reduzido apenas no 3º dia. Por fim, conclui-se que a dismotilidade gastrintestinal na mucosite induzida por 5-FU é ocasionada por alterações no SNE e nos VOCCs, que parece estar relacionada com alterações na cinética e/ou expressão dos receptores serotoninérgicos devido a liberação de serotonina por macrófagos e mastócitos.

**Palavras-Chave:** 5-Fluorouracil. Mucosite intestinal. Dismotilidade. Serotonina. Macrófagos. Mastócitos.

## ABSTRACT

Gastrointestinal dysmotility is the main physiological change in intestinal mucositis induced by 5-Fluorouracil, causing side effects such as dyspepsia, dysphagia and diarrhea. Serotonin is crucial for the pathophysiology of mucositis and intestinal dysmotility, since serotonin receptor antagonists are effective in treating these side effects. As macrophages and mast cells are pillars in intestinal inflammation and serotonin production. In this perspective, this project aims to evaluate the participation of 5-HT, macrophages and mast cells in gastrointestinal contractility during 5-FU-induced mucositis in Swiss mice. For this purpose, male Swiss mice (25-30g) were used. At first, a sample of animals was divided into two groups: 5-FU (450mg / kg, i.p., single dose) and saline. Part of the animals in group 5-FU and saline were euthanized on the 3rd day, and the rest on the 15th day. The bottom segments of the stomach and jejunum were collected after euthanasia for histopathological, morphometric and MPO activity. The contractility of the segments in the presence of 5-HT was evaluated; 5-HT + TTX; 5-HT + hexamethonium; 5-HT + Krebs  $0Ca^{+2}$  with EGTA (0.05mM) and EGTA (0.5mM); and 5-HT + nifedipine. Subsequently, a second sample of animals was subjected to peritoneal lavage, or administration of compound 48/80, and divided into groups 5-FU and saline, euthanized on the 3rd day, or 15th day. Samples from the bottom of the stomach and jejunum were collected and subjected to mast cell count, 5-HT measurement by HPLC, and contractile response to 5-HT. The results obtained show that on the 3rd day after the administration of 5-FU, no inflammatory process was detected in the stomach fundus, while in the jejunum there is an increase in histopathological scores, a decrease in the height of the villi, an increase in the depth of the crypts, a reduction in the villus ratio/crypt, neutrophilic infiltration, and increased 5-HT levels. On the 15th day after 5-FU administration, no inflammatory process occurs. Hypercontractility in response to 5-HT is present at the bottom of the stomach and jejunum. However, the use of TTX and hexamethonium promotes a reduction in contractility by 5-HT, which is even more significant with Krebs  $0Ca^{+2}$  + EGTA (0.05mM). While hypercontractility by 5-HT is abolished in the presence of Krebs  $0Ca^{+2}$  + EGTA (0.5mM) and nifedipine. The depletion of macrophages before the induction of mucositis, promotes the reduction of MPO and contractility in the bottom of stomachs and jejunum on the 3rd and 15th day, while the levels of 5-HT was decreased only on the 3rd day. In animals pretreated with compound 48/80, MPO and contractility were

reduced on the 3rd and 15th days after mucositis induction and the 5-HT level is reduced only on the 3rd day. Finally, it is concluded that gastrointestinal dysmotility in mucositis induced by 5-FU is caused by changes in the SNE and VOCCs, which seems to be related to changes in the kinetics and/or expression of serotonergic receptors due to the release of serotonin by macrophages and mast cells.

**Keywords:** 5-Fluorouracil. Intestinal mucositis. Dismotility. Serotonin. Macrophages. Mast cells.