

A deferroxamina na profilaxia da enterite actínica - estudo experimental em ratos*

Deferoxamine in the prophylaxis of experimentally induced actinic enteritis in rats

Mauro Monteiro Correia,¹ Otília Rodrigues Affonso Mitidieri² e Alberto Schanaider³

Resumo

Foi realizado estudo experimental para avaliar a eficácia da deferroxamina (DFX) na profilaxia da enterite actínica em ratos Wistar. Oito grupos foram criados: I - Controle; II - Simulação; III, V e VII - Irradiação sem DFX profilática e sacrifício após 15 horas, 5 e 30 dias respectivamente; IV, VI e VIII - Irradiação com DFX profilática e sacrifício após 15 horas, 5 e 30 dias respectivamente. Os animais dos grupos de tratamento tiveram um segmento de 10cm de íleo terminal proximais à válvula íleo-cecal irradiado com 1.000 cGy em dose única (cobaltoterapia). A DFX foi aplicada por via intraperitoneal (100mg/kg de peso corpóreo) uma hora antes do início da irradiação. As variáveis avaliadas foram clínicas (mortalidade), bioquímicas e histológicas qualitativas e quantitativas. No estudo bioquímico utilizamos o cálculo do nível de significância da diferença das médias e seus respectivos desvios-padrão, com p significativo para valores menores que 0,05 e nos estudos histopatológicos os testes F de Brieger para análise de variância e de Tukey para a comparação entre as médias. Os resultados encontrados demonstraram maior mortalidade no grupo sem profilaxia do que no com profilaxia aos 5 dias ($p < 0,01$); níveis de malondialdeído significativamente maiores no grupo de 15 horas sem DFX do que no com profilaxia; lesões exudativas mais proeminentes nos grupos que não receberam profilaxia. A morfometria do grupo de 30 dias com profilaxia foi normal. Os autores concluíram que a DFX foi eficaz na profilaxia da enterite actínica a nível histológico e atribuem seu efeito à sua capacidade significativa de redução precoce da peroxidação lipídica.

Palavras-chave: deferroxamina; enterite actínica; peroxidação de lipídios; ratos de Wistar.

Abstract

The authors performed a study to evaluate the efficacy of Deferoxamine (DFX) in the prophylaxis of experimentally induced actinic enteritis in Wistar rats. Eight groups were used: I- Control, II- Sham, III- Radiation without DFX and sacrifice 15 hours after, IV- Radiation with DFX and sacrifice 15 hours after, V- Radiation without DFX and sacrifice 5 days after, VI- Radiation with DFX and sacrifice 5 days after, VII- Radiation without DFX and sacrifice 30 days after and VIII- Radiation with DFX and sacrifice 30 days after. The model, which groups III to VIII were submitted to, consisted in exposure of a segment of 10cm of ileus proximal to the ileal-cecal valve to 1.000cGy delivered by a cobalt source device. DFX (100mg per 1 kg of body weight) was given intraperitoneally one hour before radiation. Evaluation parameters were clinical (mortality), biochemical and histological (qualitative and quantitative). For statistical analysis the tests of Brieger and Tukey were used. Morphometry was normal in the 30 day-after DFX group. The authors concluded that DFX was histologically efficient in the prophylaxis of actinic enteritis and attributed this to the capacity of DFX to decrease significantly early lipid peroxidation.

Key words: deferoxamine; actinic enteritis; lipid peroxidation; Wistar rats.

*Desenvolvido em colaboração com o Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFRJ e com o Laboratório de Bioquímica da Pesquisa Básica do Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro.

¹Doutor em Cirurgia, Seção de Cirurgia Abdomino-Pélvica, Instituto Nacional de Câncer.

²Pesquisadora (convidada) do Departamento de Bioquímica Médica do Centro de Ciências da Saúde, UFRJ. Pesquisadora 1-A do CNPq.

³Professor Adjunto Doutor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFRJ

Endereço para correspondência: Alberto Schanaider - Rua Eurico Cruz 33/603, Jardim Botânico - CEP 22461-200 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil.

Email: alberto-sch@ig.com.br cc maurom@inca.gov.br

INTRODUÇÃO

A enterite actínica pode ser uma seqüela incapacitante da radioterapia. Esta entidade patológica se caracteriza por cólicas, diarréias repetidas e profundas, podendo evoluir para obstrução intestinal e peritonite devida a perfuração intestinal. Uma estratégia para a sua prevenção seria a profilaxia química. Dentre as diversas substâncias químicas com propriedade radioprotetora, a deferroxamina (DFX) tem o potencial de diminuir a produção de radicais livres derivados do oxigênio, pois quela o ferro e bloqueia sua participação na reação de Fenton, que produz radicais hidroxila. Ela já foi utilizada em diversos modelos e demonstrou sua capacidade radioprotetora, mas até então não teve seus efeitos testados na profilaxia da enterite actínica.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o uso profilático da DFX na proteção de ratos submetidos à irradiação intestinal.

MATERIAIS E MÉTODOS

DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foram empregados ratos Wistar machos adultos, com idade inferior a um ano, pesando entre 150 e 350g. A anestesia consistiu de indução anestésica inalatória com éter sob câmara de dessecação, seguida de anestesia por injeção intraperitoneal de diazepam (20mg/kg) e cloridrato de prometazina (100mg/kg). Em seguida foi feita laparotomia, com exteriorização de 10cm de intestino delgado proximais à válvula íleo-cecal e sendo este segmento mantido hidratado superficialmente com soro fisiológico (FIGURAS 1 e 2).

Todos os animais submetidos à irradiação de segmento de intestino delgado exteriorizado o foram em condições ambientais e técnicas, semelhantes. Foi utilizado aparelho de cobaltoterapia de 1,25 mev,

Figura 1 - Exteriorização do ceco e íleo para identificação da válvula íleo-cecal.

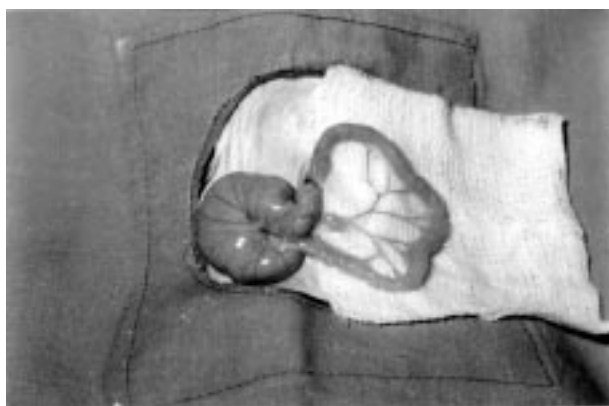
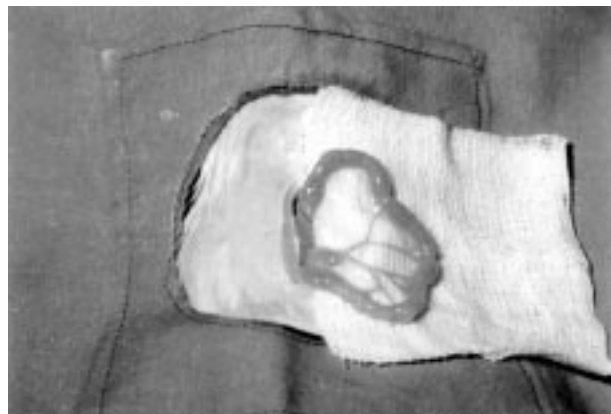
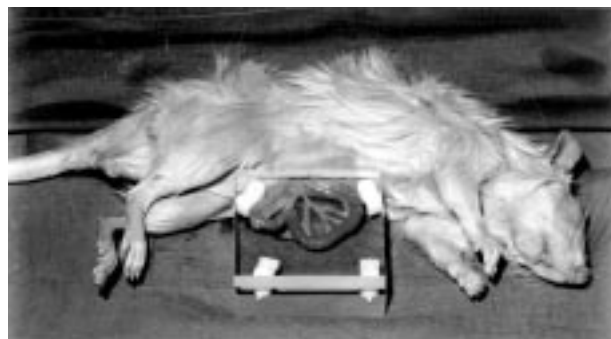


Figura 2 - Exteriorização de 10cm de íleo terminal proximais à válvula íleo-cecal



Theratron 780 C, com campo de 5x5cm, com SSD (distância entre fonte e superfície) de 80cm com interfaces sobrepostas de acrílico para obtenção de efeito de build-up, e homogeneização, com dose máxima a 1cm de profundidade, onde o intestino se situava (FIGURA 3), liberando dose única de 1.000 cGy. O óbito foi empreendido mediante de inalação de éter em câmara de dessecação e foram obtidas amostras de intestino delgado e mesentério para análise bioquímica e histológica.

Figura 3 - Panorâmica do animal com íleo exteriorizado e build-up para obtenção de dose máxima a 1 cm de profundidade a partir da superfície do acrílico.



O primeiro grupo de animais a ser constituído foi o grupo controle (I), do qual se obteve o padrão de normalidade bioquímica e histológica, com a retirada de amostras de intestino delgado e mesentério. O segundo, foi o grupo de simulação(II), que foi anestesiado e teve somente o intestino exteriorizado e hidratado por 8 minutos .

Três grupos receberam injeção intraperitoneal de mesilato de DFX (Desferalã, Ciba Geigy) (100mg/kg) uma hora antes do início da radioterapia.¹ Os outros três grupos, em lugar da DFX, receberam injeções

intra-peritoneais de soro fisiológico em igual volume ao da DFX, para servirem de controle pareado. Grupos com óbitos foram completados para permitir análise estatística adequada dos resultados bioquímicos e histológicos.

Estes seis grupos corresponderam, respectivamente, a três pares de grupos comparativos entre si. Os sacrifícios foram realizados após 15 horas (grupos III e IV), 5 dias (grupos V e VI) e 30 dias (grupos VII e VIII).

COLETA DE AMOSTRAS

Um segmento de intestino delgado irradiado, medindo 4cm, a partir de 1 cm da válvula íleo-cecal, foi retirado junto com o seu mesentério e aberto longitudinalmente ao longo da borda mesentérica. Um corte transversal dividiu o segmento de alça em duas partes de 2cm, sendo uma imersa em nitrogênio líquido para análise bioquímica e a outra imersa em formol tamponado a 10%.

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO

Após 24 horas de fixação o material foi corado com hematoxilina e eosina, e foram feitas lâminas para o estudo qualitativo e quantitativo ou morfométrico. Foi medida a espessura da parede (serosa, muscular e submucosa), a altura das vilosidades e a profundidade das criptas, em cinco pontos aleatórios de cada lâmina, com régua micrométrica ocular (Microscópio AO Spencer 10x).

ESTUDO BIOQUÍMICO

O estudo bioquímico compreendeu a dosagem das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico, entre elas o malondialdeído (MDA), conforme descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi.² O segmento de intestino foi homogeneizado em KCl a 1,15% na proporção de 1g para 100 ml. Uma alíquota (100ml) do homogeneizado foi adicionada a uma mistura de reação contendo 200ml de dodecilsulfato de sódio a 8,1%, 1.500ml de ácido acético a 20% (pH 3,5),¹ 500ml de ácido tiobarbitúrico a 0,8% e 700ml de água destilada. Após fervura a 95°C por uma hora, as amostras foram centrifugadas a 3.000g por 10 minutos. A absorbância do sobrenadante foi medida por espectrofotometria em 532nm. O tetrametoxipropano foi usado como padrão e os resultados foram expressos em nmoles de malondialdeído por 100mg de proteína, que foi dosada pelo método colorimétrico de Lowry et al.,³ usando-se albumina bovina como padrão.

ESTUDO ESTATÍSTICO

A análise estatística dos dados bioquímicos foi feita comparando-se as médias e seus respectivos desvios-padrão, usando o teste t de Student. As médias das medidas e seus respectivos erros-padrão foram comparadas utilizando-se o teste F de Brieger (Análise de Variância) e o teste de Tukey (comparação entre as médias), considerando-se como significativos valores de $p < 0,05$.⁴

RESULTADOS

Cinco óbitos relacionados ao procedimento ocorreram entre os quinze ratos iniciais do grupo de cinco dias sem DFX e somente um óbito entre os onze ratos iniciais do grupo homólogo com DFX. Cinco óbitos ocorreram por peritonite com e sem perfuração, em intervalos variados, entre os 18 ratos iniciais do grupo de 30 dias sem DFX e nenhum óbito no grupo com DFX (n=11). Estas diferenças de mortalidade foram significantes ($p < 0,01$).

ESTUDO BIOQUÍMICO

Os resultados das médias das dosagens e suas comparações encontram-se a seguir (Tabela 1).

Os níveis de MDA aumentaram significativamente para mais que o dobro do normal 15 horas após a irradiação. Estes valores decaíram aos cinco dias e mostraram-se sem diferença significativa aos 30 dias.

Os níveis de MDA diferiram significativamente entre os grupos tratados e não tratados com DFX somente para o intervalo de 15 horas.

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO

Análise qualitativa

Os achados morfológicos qualitativos foram os seguintes (FIG 4 - Fotos A a G) :

Fase Aguda (15 horas) - Sem DFX - lesões alterativas e exudativas (desorganização do cório, linfocitólise), lise celular com grande intensidade de extrusão celular no 1/3 superior das vilosidades, às vezes com ulceração (Foto C). Com DFX - menor intensidade nas alterações (menos lise celular e apoptose moderada); placas de Peyer parcialmente preservadas .

Fase Intermediária (5 dias) - Sem DFX - lesões proliferativas e exudativas, com úlceras em 3 casos; peritonite, com reação fibrosa e infiltrado de polimorfonucleares no cório, grande hiperplasia celular

Tabela 1. Significância estatística das diferenças entre as médias das dosagens de MDA dos grupos.

II - Simulação	67 ± 5,7 (n= 7)	II versus I	>0,05
III - NaCl 0,9% + RXT (15 horas)	120 ± 11,8 (n=11)	III versus I	<0,01
IV - DFX + RXT (15 horas)	90 ± 7,8 (n=17)	III versus IV	<0,05
V - NaCl 0,9% + RXT (5 dias)	87 ± 6,0 (n= 8)	V versus I	<0,05
VI - DFX + RXT (5 dias)	78 ± 7,3 (n=10)	V versus VI	>0,05
VII - NaCl 0,9% + RXT (30 dias)	67 ± 6,9 (n=13)	VII versus I	>0,05
VIII - DFX + RXT (30 dias)	69 ± 6,3 (n=10)	VII versus VIII	>0,05

*nmoles de MDA/100mg de proteína; média ± erro padrão da média

nas criptas e vilosidades reduzidas. Mesentério com dilatação linfática, proliferação conjuntiva incipiente e infiltrado inflamatório misto em 100% dos casos (Foto E). Com DFX - lesões proliferativas menos intensas (Foto D). Úlcera em somente um caso. Mesentério com discreta proliferação conjuntivo-vascular e infiltrado inflamatório misto em 2/3 dos casos somente.

Fase Tardia (30 dias) - Sem DFX - predomínio dos fenômenos proliferativos (grandes criptas e espessamento da parede). Ausência de lise celular (Foto G). Mesentério com reação peritoneal menos intensa que aos 5 dias. Com DFX - a proporção vilosidade/cripta e a espessura da parede voltaram ao normal. Em alguns casos permaneceu discreta hiperplasticidade da lâmina própria vilositária. O mesentério apresentou reação peritoneal mínima na superfície do peritônio em 1/4 dos casos, tendo os demais aspecto semelhante ao do grupo controle (Foto F).

Análise quantitativa

Não encontramos diferenças nas medidas de parede, vilosidade e cripta entre os grupos controle e simulação ($p > 0,05$). Assim sendo, escolhemos o grupo controle (I) para comparação com os demais.

Seguem-se os resultados dos grupos na tabela 2.

As diferenças nas medidas de parede, vilosidade e cripta entre os grupos sem tratamento e os tratados com DFX só foram significantes no intervalo de tempo de 30 dias ($p < 0,001$).

Figura 4 - Prancha comparativa do controle com os demais grupos: A = controle, B= IV, C= III, D= VI, E= V, F= VIII e G = VII. X50 HE.

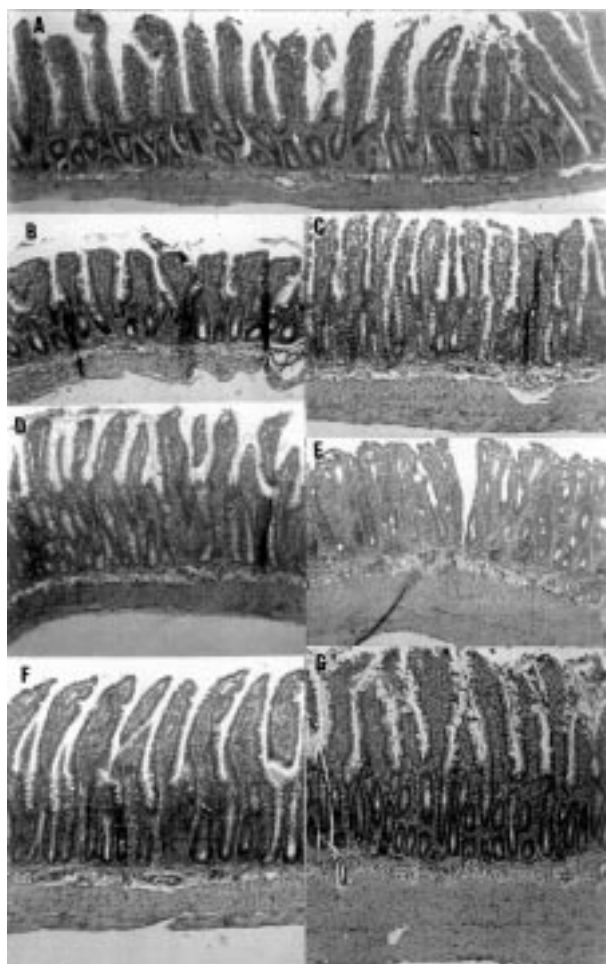


Tabela 2. Medidas* de parede, vilosidade e cripta dos grupos.

Grupo	Parede	Vilosidade	Cripta
I - Normal (n=8)	13,50± 1,00	33,53±2,60	19,94±0,52
III - NaCl 0,9% + RXT (15 horas) (n=13)	10,93±1,22	24,39± 1,75	13,22±0,76
V - NaCl 0,9% + RXT (5 dias) (n=7)	16,11±2,12	31,09±4,01	19,89±1,95
VII - NaCl 0,9% + RXT (30 dias) (n=11)	29,73±3,19	43,46±2,05	26,11±1,58
IV - Def. + RXT (15 horas) (n=17)	10,36± 0,84	23,27± 0,94	13,12 ± 0,61
VI - Def. + RXT (5 dias) (n=10)	17,82± 1,60	29,72± 2,05	22,69± 1,22
VIII - Def. + RXT (30 dias) (n=10)	11,46± 1,60	31,28± 2,19	18,88± 0,99

*Número de traços da régua micrométrica; média ± erro padrão

DISCUSSÃO

As radiações ionizantes têm teor energético milhares de vezes superior às energias de ligação dos elétrons de valência nos átomos ou moléculas. Os efeitos diretos da radiação se devem à sua ação física direta (ionização) e indireta, devido à formação de radicais livres a partir da água (70% da célula), especialmente na presença de oxigênio.^{5,6} Assim formam-se o anion superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila. Estas espécies reativas do oxigênio lesam diretamente o DNA, açúcares e promovem a peroxidação lipídica e a carbonilação de proteínas das membranas do núcleo e das organelas da célula.

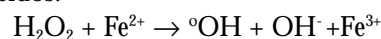
A mucosa gastrointestinal é o tecido que apresenta a mais rápida renovação celular do organismo. Reage de forma aguda e precoce à radiação, enquanto os vasos submucosos, as camadas musculares e a serosa apresentam reações tardias.^{5,6} Estes efeitos tóxicos a médio e longo prazos constituem fatores limitantes da dose para a irradiação pélvica e abdominal, a exemplo do que se observa na Síndrome de Enterite Actínica.⁷⁻¹¹

Uma forma de profilaxia é a radioproteção química, em especial quando associada à capacidade de inativar radicais livres derivados do oxigênio e seus subprodutos.^{12,13} Diversos radioprotetores têm sido utilizados, *in vivo* (os fosforotioatos, aminotióis como a cisteína, a mercaptoetilamina, 2-mercaptoetilguanidina entre outros⁵⁴), com eficácia e efeitos colaterais variáveis, impondo-se, ainda, a busca por uma substância ideal.¹⁴⁻²¹

A DFX (C₂₅H₄₈N₆O₈), cujo derivado mais utilizado

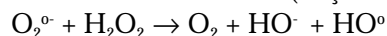
é o metanossulfato ou mesilato (C₂₅H₄₈N₆O₈CH₃.SO₃H), é um siderocromo produzido pelo *Streptomyces pilosus* e potente quelante do ferro, formando um complexo estável que previne a entrada do mesmo em reações formadoras de radicais livres. O uso potencial como radioprotetor baseia-se nas suas propriedades quelantes e que impedem a formação do radical hidroxila, inibem a oxidação iniciada pelo peroxinitrito⁵⁷ e contrapõe-se às reações citotóxicas do ácido hipocloroso produzido pelos neutrófilos.⁶¹ Deve ser administrada por via parenteral, sendo a via peritoneal a de maior efeito na redução do ferro sérico em ratos.¹ Um grama de DFX se liga a 85mg de Fe³⁺ formando complexos de feroxamina. A DFX tem sido testada em inúmeros trabalhos de investigação onde o estresse oxidativo está relacionado, com resultados variados.^{1,23-64} As evidências demonstram que a DFX é capaz de bloquear efeitos deletérios do radical °OH,⁴⁷ inibir a peroxidação lipídica^{36,48-50} e proteger tecidos e órgãos dos efeitos da reperfusão pós-isquemia, mediados pelos radicais livres derivados do oxigênio.^{32,35,36,38}

O ferro está envolvido em processos vitais como o transporte de oxigênio, transferência de elétrons, síntese do DNA.⁵¹ É reconhecida a sua importância na exacerbação do estresse oxidativo, através da reação de Fenton, ao catalisar a cisão do peróxido de hidrogênio gerando o radical hidroxila (°OH), altamente instável e principal agente causador do dano oxidativo para os tecidos:



O ânion superóxido, produzido pelos polimorfonucleares em face do processo inflamatório

após a irradiação, pode também reagir com o ferro e produzir o radical hidroxila (reação de Haber-Weiss):



A irradiação do intestino provoca fragmentação da dupla hélice do DNA, e quando o seu reparo não se dá de forma adequada cessam os mecanismos de replicação, transcrição e síntese.⁵³ Trinta minutos após a radiação a morte celular já pode ser verificada. Células transicionais do meio da cripta continuam a se diferenciar por alguns ciclos e ascendem para a vilosidade mantendo seu aspecto normal. Quando a atividade mitótica da cripta se esgota, a superfície epitelial apresenta somente uma fina camada de células e as vilosidades se encurtam ao fim do primeiro dia. As criptas tornam-se irreconhecíveis dois dias após a radiação, observando-se, quase exclusivamente, células de Paneth. No momento em que a capacidade de substituição das células das vilosidades se esgota, passa a ocorrer uma atrofia das vilosidades, marcadamente entre três a cinco dias após a radiação, com eventual ulceração.⁵⁵ Encontramos ulcerações, infiltrado inflamatório, alterações das vilosidades e que comprovam o dano pela irradiação. Quando a regeneração e o reparo não se fazem suficientes o animal morre entre o 3º e o 5º dia após a irradiação. Porém, quando há a regeneração, três semanas após uma dose subletal, o número de criptas chega a 70%-80% do normal, perdurando assim por seis meses aproximadamente.

Estudos indicam que tanto a diminuição do número das células das criptas quanto a sua recuperação são proporcionais até dose de aproximadamente 1000 cGy, à semelhança daquela que foi utilizada neste trabalho, podendo haver uma diminuição sem recuperação com doses maiores.⁵⁷⁻⁵⁹ Além da ação citotóxica sobre o enterócito, a radiação, nestas doses, provoca danos à microvasculatura, com proliferação subendotelial e ao espessamento da camada média dos vasos e ao tecido conjuntivo intestinal. A deposição intersticial de colágeno parece contribuir para os processos de isquemia, cicatrização e necrose que podem resultar num processo inflamatório crônico com tecido de granulação e fibrose.^{10,60} Com doses de até 15 Gy, observa-se um adelgaçamento da camada mucosa nos primeiros três a cinco dias, seguido de uma reação inflamatória e uma recuperação gradual do epitélio, chegando a índices morfométricos próximos aos valores normais por volta do 30º dia. Devido ao efeito rebote (hiperproliferação), estes índices superarão os valores normais em torno do 4º mês.

Na morfometria observamos uma resposta fisiológica padrão à irradiação nos grupos que não receberam DFX: adelgaçamento precoce da mucosa, recuperação aos cinco dias e compensação tardia, com aumento da

espessura da parede e do tamanho das vilosidades e das criptas (efeito rebote). Somente o grupo tratado com DFX apresentou uma resposta marcante aos 30 dias, com medidas de parede, vilosidade e cripta comparáveis aos do grupo controle (normalidade morfométrica).

A análise morfológica qualitativa permitiu verificar que os grupos com DFX apresentaram menor reação na fase aguda (15h a cinco dias) e que os que não foram tratados com DFX tiveram mais úlceras (3:1) e fenômenos proliferativos.

Optamos pela dose, via e intervalo de tempo entre a administração da DFX e a irradiação descritos no estudo de Tabak e Hoffer, que demonstraram serem estas as condições adequadas para a redução do ferro sérico livre em torno de 50% do normal.¹

O método que utilizamos para estudar a peroxidação lipídica foi a medida das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA). O TBA, empregado como indicador de peroxidação lipídica e atividade de radicais livres em amostras biológicas, não é um medidor específico do MDA, mas de substâncias TBA-reativas. O teste de Yagi, que utiliza o TBA, é provavelmente um ensaio de hidrolipoperóxidos (LOOH), porque a maior parte do MDA medido é formada, possivelmente, pela decomposição de LOOH e pela peroxidação ocorrida durante a fase de aquecimento do ensaio. Os níveis do MDA não foram alterados pela conservação do tecido em nitrogênio líquido nem pelo procedimento de simulação. Os níveis de MDA aumentaram significativamente para mais de o dobro do normal 15 horas após a irradiação ($p < 0,01$). Estes valores decaíram aos cinco dias ($p < 0,05$), e mostraram-se sem diferença significativa aos 30 dias ($p > 0,05$). A diferença nos níveis de MDA ($p < 0,05$) para os grupos de 15 horas mostrou que a DFX foi capaz de diminuir a peroxidação lipídica precocemente.

CONCLUSÕES

O uso profilático da DFX, na dose e via utilizadas, foi capaz de diminuir a peroxidação lipídica e a mortalidade, e atenuar as alterações histológicas decorrentes da irradiação intestinal. A DFX demonstrou ter exercido um papel radioprotetor do intestino neste estudo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação Ary Frauzino para Pesquisa e Controle do Câncer (FAF).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tabak A, Hoffer E. Depletion of serum iron levels in rats by intravenous administration of liposome-encapsulated desferrioxamine. *Acta Haematol* 1994;91(2):111-3.
2. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
3. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
4. Gomes FP. Curso de estatística experimental. 12a ed. Rio de Janeiro: Nobel; 1990.
5. Póvoa Filho H. Radicais livres em patologia humana. Rio de Janeiro: Imago; 1995.
6. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1994;65(1):27-33.
7. Covens A, Thomas G, DePetrillo A, Jamieson C, Myhr T. The prognostic importance of site and type of radiation-induced bowel injury in patients requiring surgical management. *Gynecol Oncol* 1991;43(3):270-4.
8. Dubois A. Effect of ionizing radiation on the gastrointestinal tract. *Fundam Appl Toxicol* 1988;11(4):501-4.
9. Loiudice TA, Lang JA. Treatment of radiation enteritis: a comparison study. *Am J Gastroenterol* 1983;78(8):481-7.
10. Sher ME, Bauer J. Radiation-induced enteropathy. *Am J Gastroenterol* 1990;85(2):121-8.
11. Yeoh E, Horowitz M. Radiation enteritis. *Surg Gynecol Obstet* 1987;165:373-9.
12. Nygaard OF, Simis MG, Hauber JN. Radioprotectors and anticarcinogens. New York: Academic Press; 1983.
13. Rangan U, Bulkley GB. Perspectivas para o tratamento de lesão tecidual mediada por radicais livres. In: Cheeseman KH, Slater TF. Radicais livres em medicina. Rio de Janeiro: Interlivros; 1996. p. 227-45.
14. Savoye C, Swenberg C, Hugot S, Sy D, Sabbatier R, Charlier M, et al. Thiol WR-1065 and disulphide WR-33278, two metabolites of the drug Ethylol (WR-2721), protect DNA against fast neutron-induced strand breakage. *Int J Radiat Biol* 1997;71(2):193-202.
15. Lambov V. Immunomodulators used in contemporary radioprotection. *Rentgenologiya Radiologiya* 1993;32(4):15-8.
16. Leccia MT, Richard MJ, Beani JC, Faure H, Monjo AM, Cadet J, et al. Protective effect of selenium and zinc on UV-A damage in human skin fibroblasts. *Photochem Photobiol* 1993;58(4):548-53.
17. Michalowski AS. On radiation damage to normal tissues and its treatment. *Acta Oncol* 1994;33(2):139-57.
18. Mori Y, Takashima H, Seo H, Yamamoto G, Liu J, Ohkawa H, et al. Experimental studies on nicaraven as radioprotector - free radical scavenging effect and the inhibition of the cellular injury. *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 1993;53(6):704-12.
19. Sarma LA, Kesavan SK. Chromosomal damage by low doses of radiation protection by combination of dietary antioxidants. *Current Science* 1994;66(11):861-2.
20. Sukolinskij VN, Shalkovskaya IA, Shamak AI. Prophylaxis of radiation (chemoradiation) complexes using antioxidant complexes in combined and multimodality treatment of oncologic patients. In: Actual problems of oncology and medical radiology. 1990. p. 299A.
21. Wang MG. Radioprotective effect of antioxidants on human blood lymphocytes. Beijing: China Nuclear Information Center; 1991. [no. C1100].
22. Casarett AP. Chemical protection. In: Radiation biology. New Jersey: Prentice-Hall; 1968. p. 256-61.
23. Assad NR, Leitão AC. Effects of metal ion chelators on DNA strand breaks and inactivation produced by hydrogen peroxide in *Escherichia coli*: detection of iron-independent lesions. *J Bacteriol* 1991;173:2562-8.
24. Bentur Y, McGuigan M, Koren G. Deferoxamine (desferrioxamine). New toxicities for an old drug. *Drug Saf* 1991;6(1):37-46.
25. Bowern N, Ramshaw IA, Clark IA, Doherty PC. Inhibition of autoimmune neuropathological process by treatment with an iron-chelating agent. *J Exp Med* 1984;160(5):1532-43.
26. Finkelstein I, Toledo-Pereyra LH, Castillo M, Castellanos J. Comparative analysis of pharmacological agents following small bowel ischemia. *Transplant Proc* 1988;20(5):1043-4.
27. Guice KS, Oldham KT, Caty MG, Johnson KJ, Ward PA. Neutrophil-dependent, oxygen-radical mediated lung injury associated with acute pancreatitis. *Ann Surg* 1989;210(6):740-7.
28. Hershko C, Grady RW, Link G. Evaluation of iron-chelating agents in an in vivo system: potential usefulness of EHPG, a powerful iron-chelating drug. *Br J Haematol* 1982;51:251-60.
29. Hossein-Sadrzadeh SM, Hallaway PE, Khettry U, Nanji AA. Macromolecular deferoxamine fails to protect against ethanol-induced hepatic injury. *Hepatology* 1994;20(4/2):358A.
30. Kvietyts PR, Twohig B, Danzell J, Specian RD. Ethanol-induced injury to the rat gastric mucosa. Role of neutrophils and xanthine oxidase-derived radicals. *Gastroenterology* 1990;98(4):909-20.
31. Lafferty P, Fergusson A. Ischemia/reperfusion injury in the weanling rat gut: a morphological appraisal and an investigation of the role of desferrioxamine and allopurinol. *Scot Med J* 1992;37(4):122.
32. Luo Y, Han Z, Chin M, Linn S. Three chemically distinct types of oxidants formed by iron-mediated Fenton reactions in the presence of DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(26):12438-42.
33. Mochida S, Ogata I, Hirata K, Ohta Y, Yamada S, Fujiwara K. Provocation of massive hepatic necrosis by endotoxin

- after partial hepatectomy in rats. *Gastroenterology* 1990;99(3):771-7.
34. Niederau C, Niederau M, Borchard F, Ude K, Luthen R, Strohmeyer G, et al. Effects of antioxidants and free radical scavengers in three different models of acute pancreatitis. *Pancreas* 1992;7(4):486-96.
 35. Paller MS, Hedlund BE. Effects of deferoxamine compounds on postischemic renal injury: site of protection by iron chelators. *Clin Res* 1987;35(6):871A.
 36. Paller MS, Hedlund BE. Role of iron in postischemic renal injury in the rat. *Kidney Int* 1988;34(4):474-80.
 37. Palmer C, Roberts RL. LXVII-8 Reduction of perinatal hypoxic-ischemic (HI) brain injury with deferoxamine treatment during recovery. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13 Suppl 1:S681.
 38. Palmer C, Roberts RL, Bero C. Deferoxamine posttreatment reduces ischemic brain injury in neonatal rats. *Stroke* 1994;25(5):1039-45.
 39. Rachidi S, Coudray C, Baret P, Gelon G, Pierre JL, Favier A. Inhibition of lipid peroxidation by a new family of iron chelators. Comparison with desferrioxamine. *Biol Trace Elem Res* 1994;41(1/2):77-87.
 40. Scaduto RC, Grottyohann LW. Cysteine oxidation by the postischemic rat kidney. *Am J Physiol* 1992;262(5 Pt 2):777-83.
 41. Schmeling DJ, Caty MG, Oldham KT, Guice KS. Cytoprotection by diclofenac sodium after intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 1994;29(8):1044-8.
 42. Morgan Smith S, Grisham MB, Mancl EA, Granger DN, Kvietys PR. Gastric mucosal injury in the rat. Role of iron and xanthine oxidase. *Gastroenterology* 1987;92(4):950-6.
 43. Tabak A, Hoffer E, Taitelman U. Evaluation of a liposome system for the delivery of desferrioxamine to lungs in rats. *Pharmacol J Pharm* 1994;46(10):789-96.
 44. Vaananen PM, Meddings JB, Wallace JL. Role of oxygen-derived free radicals in indomethacin-induced gastric injury. *Am J Physiol* 1991;261(3 Pt 1):G470-5.
 45. Vissers MCM, Fantone JC. Inhibition of hypochlorous acid-mediated reactions by desferrioxamine. Implications for the mechanism of cellular injury by neutrophils. *Free Radic Biol Med* 1990;8:331-7.
 46. Wisner JR, Green DW, Renner IG. Failure of deferoxamine mesylate to protect against ceruletide-induced acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1986;90(5 Pt 2):1694.
 47. Franzini E, Sellak H, Hakim J, Pasquier C. Comparative sugar degradation by (OH) produced by the iron-driven Fenton reaction and gamma radiolysis. *Arch Biochem Biophys* 1994;309(2):261-5.
 48. Aubailly M, Salmon S, Haigle J, Bazin JC, Maziere JC, Santus R. Peroxidation of model lipoprotein solutions sensitized by photoreduction of ferritin by 365nm radiation. *J Photochem Photobiol B* 1994;26(2):185-91.
 49. Knight JA, Searles DA, Clayton FC. The effect of desferrioxamine on stored erythrocytes: lipid peroxidation, deformability, and morphology. *Ann Clin Lab Sci* 1996;26(4):283-90.
 50. Kozlov AB, Ostrachovitch EA, Afanas'ev IB. Mechanism of inhibitory effects of chelating drugs on lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Biochem Pharmacol* 1994;47(5):795-9.
 51. Morris CJ, Earl JR, Trenam CW, Blake DR. Reactive oxygen species and iron: a dangerous partnership in inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* 1995;27:109-22.
 52. Tribble DL, Aw TY, Jones DP. The pathophysiological significance of lipid peroxidation in oxidative cell injury. *Hepatology* 1987;7(2):377-87.
 53. Sher ME, Bauer J. Radiation-induced enteropathy. *Am J Gastroenterol* 1990;85(2):121-8.
 54. Casaret AP. Effects on specific organ systems. In: *Radiation biology*. New Jersey: Prentice-Hall; 1968. p.174-210.
 55. Delaney JP, Bonsack M. Acute radiation enteritis in rats: bile salts and trypsin. *Surgery* 1992;112(3):587-92.
 56. Maisin J, Maisin JR, Dunjic A. The gastrointestinal tract. In: *Berdjic CC. Pathology of irradiation*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1971. p. 296-344.
 57. Montagna W, Wilson W. A cytologic study of the intestinal epithelium of the mouse after total X irradiation. *J Nat Cancer Inst* 1955;15:1703-35.
 58. Nandchahal K. Crypt cell population changes in the mouse jejunum during injury and repair after whole-body gamma irradiation. *Radiobiol Radiother* 1990;31:337-9.
 59. Quastler H. The nature of intestinal radiation death. *Radiat Res* 1956;4:303-20.
 60. Eriksson B, Johnson L, Rubio C. A semiquantitative histological method to estimate acute and chronic radiation injury in the small intestine of the cat. *Scand J Gastroenterol* 1982;17:1017-24.
 61. Vissers MCM, Fantone JC. Inhibition of hypochlorous acid-mediated reactions by desferrioxamine. Implications for the mechanism of cellular injury by neutrophils. *Free Radic Biol Med* 1990;8:331-7.
 62. Nagler RM, Marmary Y, Golan E, Chevion M. Novel protection strategy against X-ray-induced damage to salivary glands. *Radiat Res* 1998;149(3):271-6.
 63. Nagler RM, Eichen Y, Nagler A. Redox metal chelation ameliorates radiation-induced bone marrow toxicity in a mouse model. *Radiat Res* 2001;156(2):205-9.
 64. Balogh N, Krauz F, Levai P, Ribiczeyne PS, Vajdovich P, Gaal T. Effect of deferoxamine and L-arginine treatment on lipid peroxidation in an intestinal ischaemia-reperfusion model in rats. *Acta Vet Hung* 2002;50(3):343-56.
 65. Holley AE, Cheeseman KH. Mensuração das reações dos radicais livres in vivo. In: *Cheeseman KH, Slater TF. Radicais livres em medicina*. Rio de Janeiro: Interlivros; 1996. p. 15-25.