

# Efecto de melatonina en mucosa yugal de ratas tratadas con fluorouracilo y leucovorina cálcica. Estudio preliminar en un modelo de mucositis experimental

Effect of melatonin on the buccal mucosa of rats treated with fluorouracil and leucovorin calcium. Preliminary study on a model of experimental mucositis

Efeito da melatonina na mucosa jugal de ratos tratados com fluorouracil e leucovorin cálcico. Estudo preliminar num modelo de mucosite experimental

Fecha de Recepción: 11 de noviembre 2024

Aceptado para su publicación: 30 de noviembre 2024

## Autores:

Daniel Ríos<sup>1,a</sup>

ORCID: 0009-0000-4999-7911

Rosana Andrea Morelato<sup>2,b</sup>

ORCID: 0000-0003-0072-7291

María Angélica Rivoira<sup>3,c</sup>

ORCID: 0000-0002-7316-1564

Daniela Josefina Porta<sup>4,d</sup>

ORCID: 0000-0003-4441-3723

Marcelo Adrián Mazzeo<sup>1,b</sup>

ORCID: 0000-0002-7950-613X

Evelin Bachmeier<sup>5,b</sup>

ORCID: 0000-0001-5900-8603

1. Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

2. Cátedra de Estomatología "B". Facultad de Odontología Universidad Nacional de Córdoba.

3. Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología. Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. INICSA (CONICET- UNC).

4. Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba. INICSA (CONICET- UNC).

5. Cátedra de Fisiología y Cátedra de Estomatología "A", Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

a. Odontólogo (FO-UNC).

b. Doctor/a en Odontología, FO-UNC.

c. Doctora en Ciencias de la Salud, FCM-UNC

d. Lic. en Nutrición, Escuela de Nutrición, FCM-UNC

## Correspondencia:

Mazzeo, Marcelo Adrián. Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, Calle Enfermera Gordillo Gómez s/n. Ciudad Universitaria (CP: 5000) Ciudad de Córdoba, Argentina.

## Correo electrónico:

marcelo.mazzeo@unc.edu.ar

marceloadrianmazzeo@yahoo.com.ar

## Conflicto de intereses:

los autores declaran no tener conflictos de interés.

## Fuente de financiamiento:

Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SeCyT-UNC). Proyecto de investigación "Consolidar".

## Resumen

La mucositis oral (MO) es una complicación aguda en pacientes sometidos a quimioterapia. Afecta los tejidos blandos de la mucosa oral provocando retrasos en el tratamiento oncológico y alteración de la calidad de vida del paciente. Investigaciones clínicas y experimentales intentaron dilucidar su etiopatogenia como así también diversos protocolos farmacológicos para minimizar sus efectos deletéreos en la cavidad oral. Varios reportes describieron la acción de melatonina como agente multipropósito con poder antioxidante. En el presente trabajo se evaluaron los niveles de superóxido dismutasa y de estrés oxidativo cuantificando peróxidos lipídicos y acuosos, en un modelo animal con MO inducida al que se aplicó la droga antineoplásica fluorouracilo y su biomodulador, la leucovorina cálcica y melatonina por vía local y sistémica. Se establecieron cinco grupos experimentales (n:50) G1: Control, G2: fluorouracilo/ leucovorina cálcica, G3: fluorouracilo / leucovorina cálcica y MO inducida, G4: fluorouracilo / leucovorina cálcica, MO inducida y melatonina tópica, G5: fluorouracilo / leucovorina cálcica, MO inducida y melatonina sistémica. La actividad de superóxido dismutasa en G3 fue más baja con respecto a los grupos G4 y G5. La concentración de peróxidos lipídicos y acuosos fue superior en G3 en relación con todos los grupos de tratamiento. Se identificó en estos tejidos el daño oxidativo por la acción deletérea del citostático y la capacidad protectora de melatonina. La administración exógena de melatonina en la dosis ensayada revirtió el estado redox de la mucosa yugal.

**Palabras clave:** ratas Wistar; mucositis; fluorouracilo; leucovorina; melatonina (fuente: DeCS BIREME).

## Abstract

Oral mucositis (OM) is an acute complication in patients undergoing chemotherapy. It affects the soft tissues of the oral mucosa, causing delays in cancer treatment and negatively impacting the patient's quality of life. Clinical and experimental research has sought to elucidate its etiopathogenesis as well as to develop various pharmacological protocols to minimize its deleterious effects on the oral cavity. Several reports have described the multipurpose action of melatonin as an antioxidant agent. This study evaluated superoxide dismutase levels and oxidative stress by quantifying lipid and aqueous peroxides in an animal model of induced OM treated with the antineoplastic drug fluorouracil and its biomodulator, calcium leucovorin, as well as with melatonin administered locally and systemically.

Five experimental groups (n=50) were established: G1: Control; G2: fluorouracil/calcium leucovorin; G3: fluorouracil/calcium leucovorin and induced OM; G4: fluorouracil/calcium leucovorin, induced OM, and topical melatonin; G5: fluorouracil/calcium leucovorin, induced OM, and systemic melatonin. Superoxide dismutase activity in G3 was lower compared to G4 and G5. Lipid and aqueous peroxide concentrations were higher in G3 than in all treatment groups. Oxidative damage caused by the deleterious action of the cytostatic agent was identified in these tissues, alongside the protective capacity of melatonin. The exogenous administration of melatonin at the tested dose reversed the redox state of the buccal mucosa.

**Key words:** rats, Wistar rats; mucositis; fluorouracil; leucovorin; melatonin (source: DeCS BIREME).

## Resumo

A mucosite oral (MO) é uma complicação aguda em doentes submetidos a quimioterapia. Afeta os tecidos moles da mucosa oral causando atrasos no tratamento do cancro e alteração da qualidade de vida do doente. A pesquisa clínica e experimental tem tentado elucidar a sua etiopatogénese, bem como desenvolver vários protocolos farmacológicos para minimizar seus efeitos deletérios na cavidade oral. Vários relatos descreveram a ação da melatonina como um agente polivalente com propriedades antioxidantes. No presente estudo, foram avaliados os níveis de superóxido dismutase e de stress oxidativo, através da quantificação de peróxidos lipídicos e aquosos, num modelo animal com OM induzida,

no qual foram aplicados local e sistemicamente o fármaco antineoplásico fluorouracil e o seu biomodulador, leucovorina cálcica, além de melatonina administrada por via local e sistêmica. Foram estabelecidos cinco grupos experimentais (n:50): G1 Controle, G2 Fluorouracila/leucovorina cálcica, G3 Fluorouracila/leucovorina cálcica e MO induzida, G4 Fluorouracila/leucovorina cálcica, MO induzida e melatonina tópica, G5 Fluorouracila/leucovorina cálcica, MO induzida e melatonina sistêmica. A atividade da superóxido dismutase no G3 foi inferior à dos grupos G4 e G5. A concentração de peróxidos lipídicos e aquosos foi maior no G3 em relação a todos os grupos de tratamento. Foram identificados nestes tecidos danos oxidativos causados pela ação deletéria do citostático e a capacidade protetora da melatonina. A administração exógena de melatonina na dose testada reverteu, o estado redox da mucosa jugal.

**Palavras-chave:** ratos Wistar; mucosite; fluorouracila; leucovorina; melatonina (fonte: DeCS BIREME).

## Introducción

La mucositis oral (MO) es una complicación aguda producida por tratamientos antineoplásicos de quimioterapia (QT) o radioterapia (RT). Se trata de una respuesta inflamatoria que posee diversos grados de severidad cualitativos y cuantitativos afectando a los tejidos blandos de la boca y llegando a limitar funciones esenciales como la masticación, la deglución y la fonoarticulación. Estas alteraciones provocan retrasos o abandono del tratamiento de base, además del incremento de gastos intrahospitalarios y una significativa disminución en la calidad de vida del paciente<sup>1</sup>.

Los diversos tipos de cáncer que involucran a la zona orofaríngea presentan una elevada incidencia de MO que oscila entre el 60 y 100% de los pacientes tratados con esas terapias. Se manifiesta clínicamente por lesiones eritematosas o ulceradas de gran tamaño y profundidad, de aspecto irregular y cubiertas a menudo por una pseudomembrana. Las formas severas de MO se asocian con lesiones dolorosas, deterioro de la función del sistema estomatognático, adaptación de la textura de los alimentos consumidos, e incluso el reemplazo progresivo de la dieta habitual, con dependencia de soporte nutricional parenteral, asociado a potencial riesgo de padecer cuadros de infección severa<sup>2</sup>.

Los procesos inflamatorios subyacentes al cuadro de MO involucran una serie de modificaciones a nivel celular y humoral, produciendo en algunos casos efectos nocivos sobre el tejido, dificultando su capacidad de reparación. De allí la importancia de encontrar marcadores dosables a nivel tisular que nos permitan evaluar de manera indirecta el estatus oxidativo y la capacidad antioxidante tisular, así como la eficacia de diversas terapias en el manejo de la MO<sup>3</sup>.

La inflamación cursa con la liberación de distintas especies reactivas de oxígeno (ROS, por su sigla en inglés, reactive oxygen species), las cuales presentan efectos citotóxicos. La peroxidación por ROS produce ácidos grasos poliinsaturados en las membranas biológicas. La descomposición de estos lípidos facilita la liberación de productos terminales tales como el malondialdehído (MDA), siendo según sus niveles, indicador de peroxidación lipídica y de daño celular causado por acción de los radicales libres.

El MDA reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA), dando el producto MDA-TBA<sub>2</sub>, susceptible de medición espectrofotométrica. Distintos estudios han revelado que las respuestas celulares a estímulos externos son mediadas principalmente por la peroxidación lipídica causada por el incremento del estrés oxidativo<sup>4</sup>.

Una de las drogas quimioterapéuticas más utilizadas es el fluorouracilo, también conocido como 5-fluorouracilo o 5-FU. El fluorouracilo sistémico fue aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para el tratamiento de los adenocarcinomas gástrico, pancreático, de mama y colorrectal, entre otros.

El fluorouracilo es un análogo del uracilo, un componente del ácido ribonucleico. Este fármaco funciona como un antimetabolito, cambiando la forma en que las células cancerosas producen y utilizan el ADN y el ARN. Después de la conversión intracelular al desoxinucleótido activo, interfiere con la síntesis de ADN al bloquear la conversión del ácido desoxiuridílico a ácido timidílico por la enzima celular timidilato sintetasa. También este antineoplásico tiene capacidad para interferir con la síntesis de ARN<sup>5</sup>.

Por su parte, la leucovorina cálcica es un derivado del ácido fólico. Se utiliza como antídoto de los fármacos antagonistas del ácido fólico. Se emplea como fármaco de socorro para antagonizar los efectos tóxicos del metotrexato y como coadyuvante en tratamientos oncológicos<sup>6</sup>.

Este fármaco biomodula y potencia los efectos terapéuticos y tóxicos de las fluoropirimidinas utilizadas en la terapia del cáncer, tales como el fluorouracilo. La administración concomitante de fluorouracilo y leucovorina cálcica no parece alterar la farmacocinética de dicha droga oncológica en plasma<sup>7</sup>.

Por otra parte, han sido propuestos numerosos tratamientos para disminuir o evitar la aparición de MO en pacientes tratados con quimioterapia, entre los que se destacan, la ozonoterapia, el gel de melatonina, cuidados orales básicos, factores de crecimiento y citocinas, agentes antiinflamatorios, agentes de recubrimiento con efectos anestésicos y analgésicos, antimicrobianos o antifúngicos, terapia con láser o luz, crioterapia y agentes naturales como la miel, entre otros<sup>8-10</sup>.

A su vez, la melatonina - N-acetyl-5-methoxytryptamine- (MLT) es una hormona de naturaleza indólica, con un potente efecto antioxidante. Por ser una molécula tanto liposoluble como hidrosoluble, sus efectos serían superiores a las vitaminas E y C, difundiendo con gran facilidad tanto en la membrana celular, como en el núcleo o en las mitocondrias. Además, tiene la función de depurar especies reactivas de nitrógeno<sup>11</sup>.

La actividad antioxidante de la MLT estaría dada por su capacidad recolectora de radicales libres de las que dispondría un organismo contra diversas injurias exógenas, incluso las farmacológicas. Numerosos reportes han demostrado que MLT regula la expresión génica de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx). Desde esta perspectiva, la administración de melatonina como coadyuvante farmacológico, podría minimizar el estrés oxidativo generado durante los procesos inflamatorios que acompañan a la MO<sup>12</sup>.

A partir de estos antecedentes, evaluamos en mucosa yugal de ratas Wistar con MO inducida y tratadas con fluorouracilo y leucovorina cálcica, el efecto antioxidante de MLT administrada por vía tópica y sistémica. Para ello, se midieron los niveles de superóxido dismutasa (SOD), así como la expresión de peróxidos lipídicos (PL) y acuosos (PA) con el objetivo de identificar el estrés oxidativo en dichos tejidos por acción de esta droga oncológica. A su vez, en el presente modelo animal, comparamos el grado de efectividad de la aplicación tópica de MLT y de la administrada por vía sistémica para el tratamiento de la MO.

### Materiales y Métodos

Se utilizaron 50 ratas Wistar macho y hembra adultas de 300/350 gramos, pertenecientes al bio-terio de la Cátedra de Fisiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba. Todos los animales fueron divididos aleatoriamente en igual proporción por sexo y alojados en jaulas individuales, mantenidas bajo ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, con alimentación y bebida ad libitum. Se establecieron los siguientes grupos experimentales:

Grupo 1 (G1): control (n:10),

Grupo 2 (G2): fluorouracilo/ leucovorina cálcica (n: 10),

Grupo 3 (G3): fluorouracilo / leucovorina cálcica y MO inducida (n:10),

Grupo 4 (G4): fluorouracilo / leucovorina cálcica, MO inducida y MLT tópica (n:10),

Grupo 5 (G5): fluorouracilo / Leucovorina cálcica, MO inducida y MLT sistémica (n:10).

Los animales del grupo G1 fueron mantenidos sin ningún tipo de tratamiento durante el mismo período de tiempo (nueve días) que los grupos 2, 3, 4 y 5. Los animales del grupo G2 recibieron una inyección intraperitoneal (i.p.) de fluorouracilo y leucovorina cálcica de 20 mg/Kg y 10 mg/kg de peso respectivamente, durante cinco días consecutivos (días 3,4,5,6 y 7). Las ratas del grupo G3 tuvieron igual tratamiento que G2 y se les practicó MO inducida los días 3, 4 y 5 de la actividad experimental. Los animales del G4 recibieron una inyección i.p. conjunta durante cinco días consecutivos de fluorouracilo y leucovorina cálcica 20 mg/kg y 10 mg/kg de peso corporal,

los días 3,4,5,6 y 7. A su vez, con un hisopo estéril se aplicó un gel de MLT tópica al 3% sobre la mucosa yugal (marca comercial Parafarm) en orabase. Ésta es una pasta adhesiva, untuosa, hidrófoba y anhidra que favorece la sustentividad de diversos principios activos que son aplicados tópicamente en la mucosa bucal. Dicho producto fue aromatizado con esencia de naranja dulce al 0,5%, y aplicado tres veces al día (09,00 horas, 15,00 horas y 21 horas) durante todo el tratamiento. Los animales del grupo G5 recibieron idéntico tratamiento farmacológico que los grupos G2 y G3. A este grupo se le administró posteriormente una sola dosis diaria de MLT sistémica intraperitoneal 5 mg/Kg de peso del principio activo en polvo fino blanquecino de melatonina fácilmente soluble en etanol, (marca comercial Parafarm) los mismos días que G3.

La MO experimental fue inducida en los animales de los grupos G3, 4 y 5 mediante irritación mecánica con una hoja de bisturí bard parker número 12 sobre la mucosa yugal derecha e izquierda realizando cinco movimientos consecutivos de roce lineal, los días 3, 4 y 5. Este modelo se utilizó en otros ensayos experimentales para provocar mucositis en ratas<sup>13,14</sup>. En todas las instancias del diseño experimental, los animales fueron previamente anestesiados con isoflurano por vía inhalatoria (Laboratorio Pablo Cassará SRL).

El día 10 (previo ayuno de doce horas), todos los animales de los cinco grupos fueron anestesiados y bajo estado de inconsciencia se les extirpó la mucosa yugal de ambos lados, la que se conservó a -20°C para su posterior procesamiento. Finalmente fueron sacrificados mediante una maniobra de dislocación cervical. Este protocolo fue aprobado por el Comité para el cuidado y uso de animales de laboratorio dependiente de las Facultades de Ciencias Médicas y Odontología de la UNC (V 28/2022), (Tabla I).

En la mucosa yugal se efectuaron las siguientes determinaciones:

Niveles de superóxido dismutasa (SOD): A las muestras de mucosa yugal se les adicionó un buffer de extracción (fosfato de potasio 50 mmol/L más EDTA 1 MMOL/l, Ph 7,5). Se centrifugó durante 30 minutos a 1400 rpm a 4°C. En el sobrenadante se determinó la actividad en EDTA 1 µM, buffer fosfato



**Tabla 1.** Diseño de la actividad experimental. Referencias: Tto: tratamiento; MLT t: melatonina tópica; MLT s: melatonina sistémica; 5-FU + LV: 5-fluorouracilo + leuovorina cálcica; i.p.: intraperitoneal; pc: peso corporal; MOi: mucositis oral inducida; Alim: alimentación.

Grupos	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10
G1	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Alim ad libitum sin Tto	Ayuno 12hs + experiencia
G2	Sin Tto	Sin Tto	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Sin Tto	Sin Tto	Ayuno 12hs + experiencia
G3	Sin Tto	Sin Tto	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)	Sin Tto	Sin Tto	Ayuno 12hs + experiencia
G4	MLTt 3% 0,5 x3	MLTt 3% 0,5 x3	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma + MLTt 3% 0,5 x3	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma + MLTt 3% 0,5 x3	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma + MLTt 3% 0,5 x3	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ MLTt 3% 0,5 x3	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ MLTt 3% 0,5 x3	MLTt 3% 0,5 x3	MLTt 3% 0,5 x3	Ayuno 12hs + experiencia
G5	iny MLTs(5 mg/Kg)	iny MLTs(5 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma +iny MLTs(5 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma +iny MLTs(5 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ Trauma +iny MLTs(5 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ iny MLTs(5 mg/Kg)	Ip 5Fu(20 mg/Kg)+Lv (10 mg/Kg)+ iny MLTs(5 mg/Kg)	iny MLTs(5 mg/Kg)	iny MLTs(5 mg/Kg)	Ayuno 12hs + experiencia

de potasio 50 mM pH 7,8, metionina 13 mM, NBT 75  $\mu$ M y riboflavina 40  $\mu$ M. Los resultados se expresaron en U SOD m/mg de proteína. Las proteínas se midieron por la técnica de Bradford<sup>15</sup>.

Concentración de peróxidos lipídicos y acuosos (PL y PA): Los tejidos de la mucosa yugal tienen capacidad de reaccionar con naranja de xilenol. El procedimiento consistió en incubar la muestra con una solución cromógena (10:100 v/v) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Para PL, el sulfato amoníaco ferroso fue reconstituido con hidroxitolueno butilado 4 mM y naranja de xilenol 125  $\mu$ M en metanol al 90% (Sigma-Aldrich Co., Estados Unidos) Para la determinación de PA, dicha solución consistió en sulfato amoníaco ferroso 25 mM en ácido sulfúrico 2,5 M reconstituido con sorbitol 100 mM y naranja de xilenol 125  $\mu$ M. Ambas determinaciones fueron medidas a 540 nm y calculadas como porcentajes y estandarizar por el contenido proteico<sup>16</sup>.

Evaluación clínica de la evolución de MO inducida: Se realizó mediante los criterios de clasificación clínicos NCI (National Cancer Institute, Estados Unidos): 1) Asintomático o síntomas leves, sin necesidad de intervenir, 2) Dolor moderado, no interfiere con la ingesta oral, se debe modificar la dieta, 3) Dolor severo, interfiere con la ingesta oral, 4) Consecuencias potencialmente letales, se requiere intervenciones urgentes 5) Muerte<sup>17</sup>.

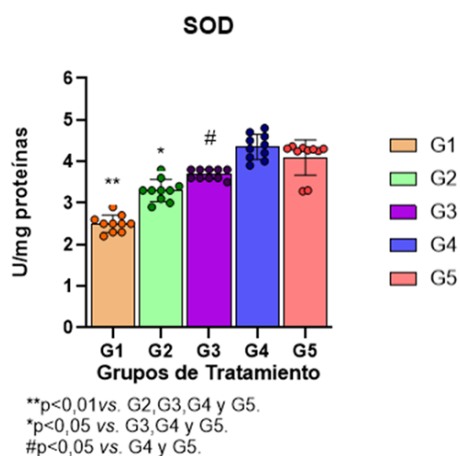
Análisis estadístico: Los resultados fueron comparados mediante el análisis de la Varianza de un factor y la Prueba post hoc de Bonferroni para evaluar la correspondencia de las diferencias entre los grupos analizados.

## Resultados

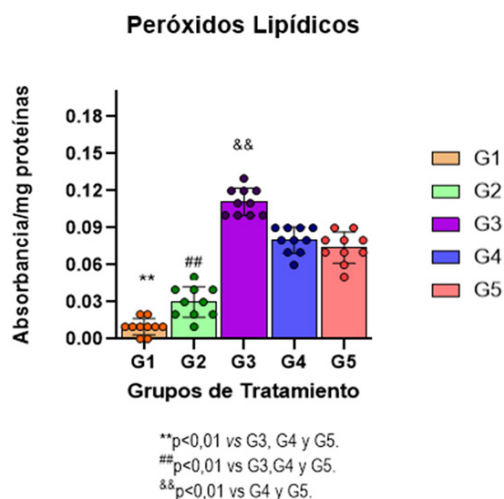
La actividad de SOD en el grupo G3 fue más baja con respecto a los grupos G4 y G5 ( $p < 0,05$ ) (Figura 1). En la evaluación de la expresión de prooxidantes, la concentración tanto de PL como de PA fue superior en G3 con respecto a todos los grupos de tratamiento ( $p < 0,01$ ) (Figuras 2 y 3). Asimismo, podemos inferir que el tratamiento con fluorouracilo mostró una disminución significativa de la actividad de SOD en la mucosa yugal respecto de los otros grupos tratados con MLT, que revirtió dicho parámetro. Por su parte, el fluorouracilo aumentó la producción de PL y PA en G3, mientras que los animales tratados con MLT mejoraron estos parámetros. Por lo tanto, MLT atenuó el efecto oxidativo producido por fluorouracilo.

## Discusión

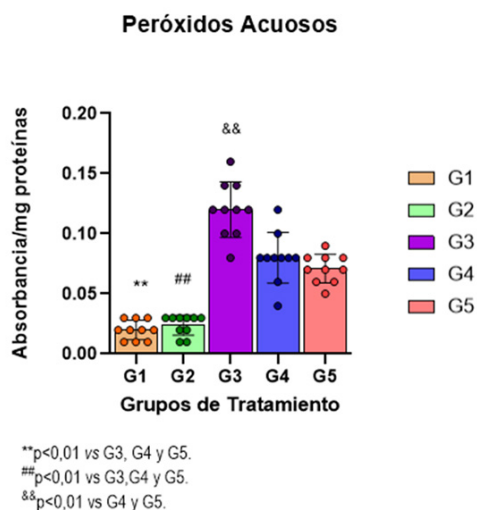
La MO es un efecto deletéreo que se presenta de manera frecuente durante la quimioterapia contra el cáncer, con importantes repercusiones negativas durante la administración de los tratamientos antineoplásicos. Se ha demostrado que numerosos fármacos utilizados en esquemas oncológicos tienen capacidad potencial para generar estrés oxidativo dentro de los que se destacan las drogas citostáticas<sup>18</sup>.



**Figura 1.** Actividad de Superóxido dismutasa (SOD). Se evaluó la actividad de SOD en mucosa yugal de ratas. Los datos representan  $M \pm DE$ ,  $n=10$  por grupo experimental.



**Figura 2.** Expresión de peróxidos lipídicos en mucosa yugal en los distintos grupos experimentales. Los datos representan  $M \pm DE$ ,  $n=10$  por grupo experimental.



**Figura 3.** Expresión de peróxidos acuosa en mucosa yugal en los distintos grupos experimentales. Los datos representan  $M \pm DE$ ,  $n=10$  por grupo experimental.

Se tiene evidencia científica que, el tratamiento con fluorouracilo estimula varias citoquinas pro-inflamatorias y el factor de necrosis tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ) que resultarían clave en la patogénesis de la MO exacerbando la respuesta inflamatoria de los tejidos blandos de la boca<sup>19-21</sup>.

Tal como reportaron otros autores y nuestro equipo, la administración de citostáticos afecta no sólo las células tumorales sino también los sistemas orgánicos con alta tasa de actividad funcional y mitosis como es la cavidad oral, donde la mucosa yugal es una de las estructuras blanco más comúnmente involucradas. Esto altera la homeostasis del sistema estomatognático, provocando una alteración de la calidad de vida de los pacientes sometidos a tratamiento oncológico específico, que se evidencia en la imposibilidad de llevar a cabo funciones como la formación del bolo alimenticio, el inicio del proceso de la digestión, la pérdida de la capacidad defensiva local, la deglución, la alteración de la percepción de las sustancias sápidas, la inflamación gingival y de los tejidos blandos, infecciones oportunistas, incremento de caries dental, dificultad para una correcta fonación y dolor<sup>22,23</sup>.

El objetivo de este estudio fue reproducir un modelo in vivo de lesión de la mucosa yugal de ratas que replique la MO inducida por fluorouracilo, en el que pueda analizarse el posible efecto antioxidante de melatonina administrada por vía local o sistémica. Los resultados obtenidos en nuestro laboratorio mostraron un incremento concomitante de la producción de superóxido dismutasa y disminución del perfil oxidativo en los grupos tratados con fluorouracilo suplementados con melatonina tópica y sistémica. Esto indicaría una significativa reducción del estrés oxidativo a nivel de la mucosa yugal de los animales de estos grupos frente a aquellos en los cuales se administró el mismo esquema oncológico con inducción de mucositis oral sin MLT. A su vez, entre los grupos tratados con MLT no habría diferencias significativas en cuanto al efecto terapéutico entre la vía local versus la vía intraperitoneal, puesto que ambos mostraron resultados similares. En las bases de datos consultadas no identificamos otros trabajos con los cuales contrastar nuestros resultados. No obstante, efectos similares de MLT se evidenciaron por nuestro equipo a nivel de SOD, PL y PA

en glándula submandibular de ratas tratadas con la droga oncológica ciclofosfamida<sup>24</sup>.

A partir de nuestros hallazgos, resulta importante no solo haber identificado el daño oxidativo provocado por fluorouracilo, sino también reconocer la capacidad protectora de la melatonina sobre estos tejidos por acción deletérea de este citostático. En tal sentido, podemos inferir que la administración exógena por vía tópica y sistémica de MLT en las dosis ensayadas, permitió revertir y equilibrar el estado redox de la mucosa yugal, tal como fue demostrado por una normalización de la batería antioxidante enzimática junto a una reducción significativa del estrés oxidativo. Si bien este tejido en condiciones fisiológicas tendría capacidad para incrementar su metabolismo celular aumentando su respuesta antioxidante, podemos inferir que frente a la administración de fluorouracilo, la aplicación concomitante de MLT actuaría como agente coadyuvante antioxidante para minimizar los efectos de la MO. Desde esta perspectiva y en coincidencia con otros investigadores, la administración de MLT como coadyuvante farmacológico, aplicada con fines terapéuticos sobre sistemas orgánicos con alta capacidad funcional, tal como ocurre con la mucosa yugal, favorecería la disminución del estrés oxidativo<sup>25,26</sup>.

Además, la significativa mejoría de los parámetros clínicos (representada por la reversión de la MO al día 7 de la experiencia) y la menor concentración de PL y PA en los animales de los grupos tratados con MLT tópica y sistémica podría estar dando cuenta del papel preventivo de la misma en el desarrollo de esta complicación del tratamiento oncológico efectuado.

## Conclusiones

En síntesis, nuestro estudio permitiría dar continuidad a futuras investigaciones tomando como punto de partida que la administración exógena de MLT, sumada a la batería antioxidante producida por el propio organismo, tendrían capacidad para minimizar los efectos pro oxidativos ocasionados por la administración de fluorouracilo. Se sugiere ampliar este estudio para evaluar el comportamiento de otros agentes antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos como catalasa y ácido úrico entre otros, con el propósito de corroborar los resultados prelimina-

res del presente trabajo. Resulta interesante seguir indagando acerca del comportamiento de la melatonina como “antioxidante multipropósito” y su efecto sobre el estrés oxidativo a nivel de la mucosa yugal ocasionado por acción de este citostático y otras posibles drogas oncológicas que, por su carácter no selectivo, pueden alcanzar otras estructuras funcionales de la cavidad bucal.

## Referencias bibliográficas

1. Daugėlaitė G, Užkuraitytė K, Jagelavičienė E, Filipauskas A. Prevention and treatment of chemotherapy and radiotherapy induced oral mucositis. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(2):25. doi: 10.3390/medicina55020025.
2. Epstein JB, Schubert MM. Oropharyngeal mucositis in cancer therapy. Review of pathogenesis, diagnosis, and management. *Oncology (Williston Park)*. 2003;17(12):1767-79.
3. Żukowski P, Maciejczyk M, Waszkiel D. Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. *Arch Oral Biol*. 2018;92:8-17. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.04.018
4. Sardaro N, Della Vella F, Incalza MA, DI Stasio D, Lucchese A, Contaldo M, Laudadio C, Petrucci M. Oxidative stress and oral mucosal diseases: an overview. *In Vivo*. 2019;33(2):289-296. doi: 10.21873/invivo.11474
5. Vodenkova S, Buchler T, Cervena K, Veskrnova V, Vodicka P, Vymetalkova V. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: past, present and future. *Pharmacol Ther*. 2020;206:107447. doi: 10.1016/j.pharmtherap.2019.107447
6. Mazzeo MA, Linares JA, López MM, Bachmeier E, Wietz FM, Galván V, Valentinuzzi MC, Riveros JA, Finkelberg A. Analysis of saliva samples from oncological patients treated with 5-fluorouracil and leucovorin calcium by scanning electron microscopy with energy dispersive system. *J Oral Pathol Med*. 2013;42(10):788-92. doi: 10.1111/jop.12078
7. Ala S, Saeedi M, Janbabai G, Ganji R, Azhdari E, Shiva A. Efficacy of sucralfate mouth wash in prevention of 5-fluorouracil induced oral mucositis: a prospective, randomized, double-blind, controlled trial. *Nutr Cancer*. 2016;68(3):456-63. doi: 10.1080/01635581.2016.1153666
8. Chaveli-López B, Bagán-Sebastián JV. Treatment of oral mucositis due to chemotherapy. *J Clin Exp Dent*. 2016;8(2):e201-9. doi: 10.4317/jced.52917
9. Peralta-Mamani M, da Silva BM, da Silva Pinto AC, Rubira-Bullen IRF, Honório HM, Rubira CMF, da Silva

- Santos PS. Low-level laser therapy dosimetry most used for oral mucositis due to radiotherapy for head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;138:14-23. doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.03.009
10. Münstedt K, Männle H. Using bee products for the prevention and treatment of oral mucositis induced by cancer treatment. *Molecules*. 2019;24(17):3023. doi: 10.3390/molecules24173023
11. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie*. 2015;61(2-3):77-84. doi: 10.1016/j.neuchi.2015.03.002
12. Khan A, Numan M, Khan AL, Lee IJ, Imran M, Asaf S, Al-Harrasi A. Melatonin: awakening the defense mechanisms during plant oxidative stress. *Plants (Basel)*. Mar 25;9(4):407. doi: 10.3390/plants9040407
13. Aras MH, Sezer U, Erkilic S, Demir T, Dagli SN. Effect of dietary boron on 5-fluorouracil induced oral mucositis in rats. *Eur J Dent*. 2013;7(3):310-314. doi: 10.4103/1305-7456.115415
14. Sonis ST, Tracey C, Shklar G, Jenson J, Florine D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1990;69(4):437-43. doi: 10.1016/0030-4220(90)90376-4
15. Rivoira M, Rodríguez V, Picotto G, Battaglino R, Tola de Talamoni N. Naringin prevents bone loss in a rat model of type 1 diabetes mellitus. *Arch Biochem Biophys*. 2018;637:56-63. doi: 10.1016/j.abb.2017.12.001
16. Soria EA, Goleniowski ME, Cantero JJ, Bongiovanni GA. Antioxidant activity of different extracts of argentinian medicinal plants against arsenic-induced toxicity in renal cells. *Hum Exp Toxicol*. 2008;27(4):341-6. doi: 10.1177/0960327108092192
17. Navarro-Wike Pablo Ignacio, Leiva-Contreras Cristóbal Alejandro, Donoso-Hofer Francisca. Mucositis oral: actualización en el diagnóstico, prevención y tratamiento. *Int J Odontostomat* [Internet]. 2021 [citado 2024 Nov 04]; 15(1): 263-270. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-381X2021000100263&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2021000100263&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2021000100263>.
18. Bagnall-Moreau C, Chaudhry S, Salas-Ramirez K, Ahles T, Hubbard K. Chemotherapy-induced cognitive impairment is associated with increased inflammation and oxidative damage in the hippocampus. *Mol Neurobiol*. 2019;56(10):7159-7172. doi: 10.1007/s12035-019-1589-z
19. Sonis S, Andreotta PW, Lyng G. On the pathogenesis of mTOR inhibitor-associated stomatitis (MIAS)-studies using an organotypic model of the oral mucosa. *Oral Dis*. 2017;23(3):347-352. doi: 10.1111/odi.12616
20. Sobue T, Bertolini M, Thompson A, Dongari-Bagtzoglou A. Model of chemotherapy-associated mucositis and oral opportunistic infections. *Bio Protoc*. 2019;9(21): e3411. doi: 10.21769/BioProtoc.3411
21. Sonis ST. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. *Oral Oncol*. 2009;45(12):1015-20. doi: 10.1016/j.oraloncology.2009.08.006
22. Sobue T, Bertolini M, Thompson A, Peterson DE, Diaz PI, Dongari-Bagtzoglou A. Chemotherapy-induced oral mucositis and associated infections in a novel organotypic model. *Mol Oral Microbiol*. 2018;33(3):212-223. doi: 10.1111/omi.12214
23. Bachmeier E, Migueles Goitea ME, Linares JA, Wietz FM, Jarchum S, Jarchum G, Brunotto MN, Mazzeo MA. Determinación de algunos marcadores de estrés oxidativo, funcionales e inmunológicos en saliva de pacientes sometidos a trasplante de médula ósea (TMO). *Rev Fac Cien Med Univ Nac Córdoba*. 2021;78(4):384-390. doi: 10.31053/1853.0605.v78.n4.33227
24. Bachmeier E, Wietz FM, Porta DJ, Moine L, Dubersarsky CG, Francia CM, Samar ME, Rivoira MA, Mazzeo MA. Melatonina revierte el daño oxidativo en glándula submandibular de ratas tratadas con ciclofosfamida. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Córdoba*. 2023;80(4):404-419. doi: 10.31053/1853.0605.v80.n4.40930
25. Chitimus DM, Popescu MR, Voiculescu SE, Panaitescu AM, Pavel B, Zagrean L, Zagrean AM. Melatonin's impact on antioxidative and anti-inflammatory reprogramming in homeostasis and disease. *Biomolecules*. 2020;10(9):1211. doi: 10.3390/biom10091211
26. Loren P, Sánchez R, Arias ME, Felmer R, Risopatrón J, Cheuquemán C. Melatonin scavenger properties against oxidative and nitrosative stress: impact on gamete handling and in vitro embryo production in humans and other mammals. *Int J Mol Sci*. 2017;18(6):1119. doi: 10.3390/ijms18061119