



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

**UM NOVO MODELO DE DISAUTONOMIA INDUZIDA PELO TRATAMENTO
CRÔNICO COM VINCRISTINA EM RATOS ACORDADOS**

ARNALDO AIRES PEIXOTO JÚNIOR

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim

FORTALEZA-CE

2008

ARNALDO AIRES PEIXOTO JÚNIOR

**UM NOVO MODELO DE DISAUTONOMIA INDUZIDA PELO TRATAMENTO
CRÔNICO COM VINCRISTINA EM RATOS ACORDADOS**

**Dissertação submetida à Coordenação
do Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia da Universidade Federal
do Ceará, como pré-requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em
Farmacologia.**

**Orientador: Prof. Dr. Francisco de
Assis Aquino Gondim**

FORTALEZA

2008

P43n Peixoto Júnior, Arnaldo Aires

Um novo modelo de disautonomia induzida pelo tratamento crônico com vincristina em ratos acordados/ Arnaldo Aires Peixoto Júnior. – Fortaleza, 2008.

116 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Síndromes Neurotóxicas 2. Doenças do Sistema Nervoso Autônomo 3. Vincristina I. Gondim, Francisco de Assis Aquino (orient.) II. Título.

CDD 616.88

ARNALDO AIRES PEIXOTO JÚNIOR

**UM NOVO MODELO DE DISAUTONOMIA INDUZIDA PELO TRATAMENTO
CRÔNICO COM VINCRISTINA EM RATOS ACORDADOS.**

**Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.**

Aprovada em: 12 de março de 2008

BANCA EXAMINADORA

Prof. Francisco de Assis Aquino Gondim (orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Francisco Hélio Rola
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Carlos Maurício de Castro Costa
Universidade Federal do Ceará - UFC

Esta dissertação é dedicada
À minha querida esposa, Raquel,
Pelo amor e apoio incondicional na árdua tarefa de completar
este ciclo

Aos meus pais,
Pelo incentivo na busca dos meus ideais

Ao meu filho, Gustavo,
Que me mostrou a forma mais simples e maravilhosa do amor

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho, em particular:

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim, pelo apoio, receptividade, disponibilidade, competência, paciência, orientações preciosas na elaboração desta tese, e particularmente pela amizade e incentivo à vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos, pela orientação e participação fundamental na origem deste trabalho, além dos inúmeros incentivos durante vários momentos desta trajetória.

Ao Prof. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro que não mediu esforços em ceder o espaço, substratos e equipamentos para a realização deste trabalho, além da importante orientação inicial.

Ao Prof. Dr. Francisco Hélio Rola, exemplo de dedicação à vida acadêmica.

Aos professores Marcos Raimundo Vale e Glauce Viana pelo espaço e equipamentos cedidos para o desenvolvimento desse trabalho.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação, pelo esforço em criar condições para a realização desse trabalho.

Aos amigos bolsistas Benedito Cadorno Teles, Érico Furtado Brasil Castro, Patrícia Aquino e Lucas Pinho e à doutoranda Katia Virginia Viana Cardoso Braga que tanto se esforçaram para a execução desse trabalho.

Ao doutorando Dr. Raimundo Campos Palheta Júnior pela amizade, orientações e incentivo na realização desse trabalho.

Ao Mestre Moisés Tolentino Bento da Silva pela amizade e contribuição significativa na execução desse trabalho.

Aos amigos do Laboratório Escola Prof. Luis Capelo (LELC) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC, em especial ao Sr. Antônio Haroldo Pinheiro Ferreira, que não mediu esforços para auxiliar na realização da técnica.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação pela agradável parceria conseguida durante esse período.

Às secretárias do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC Áurea e Rose, pelos auxílios prestados aos alunos do Curso de Pós-Graduação.

A todos os professores, colegas e funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, pelo auxílio e pela amizade conquistada.

“Em nosso esforço pra compreender a realidade somos semelhantes a um homem tentando compreender o mecanismo de um relógio fechado. Ele vê o mostrador e os ponteiros em movimento, até ouve o seu tique-taque, mas não tem meio algum de abrir a caixa. Se for engenhoso, poderá formar alguma imagem de um mecanismo que poderia ser responsável por todas as coisas que observa, mas jamais poderá estar certo de que sua imagem seja a única capaz de explicar suas observações”.

Albert Einstein & Leopold Infeld

RESUMO

UM NOVO MODELO DE DISAUTONOMIA INDUZIDA PELO TRATAMENTO CRÔNICO COM VINCRISTINA EM RATOS ACORDADOS.

Arnaldo Aires Peixoto
Júnior Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2008.

A vincristina é um quimioterápico e seu uso é limitado devido a neuropatia periférica, com acometimento autonômico, sensitivo e motor. Sulfato de vincristina ou salina foram injetados na veia da cauda, nas doses de 50 µg/Kg (5 doses), 100 µg/Kg (2-5 doses) ou 150 µg/Kg (1, 2 ou 5 doses) a cada dois dias em 144 ratos Wistar machos (200-250 g). No dia seguinte, os animais receberam a refeição-teste por gavagem e foram sacrificados 10 minutos após. A recuperação gástrica e intestinal de corante foi determinada por espectrofotometria. Constipação foi avaliada pelo peso colônico e neuropatia sensitiva pela latência térmica ($51 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) basais e valores da PAM e FC após a administração de fenilefrina 5 µg/Kg e atropina 0,5 mg/Kg foram usados para estudo dos baroreflexos. Diferenças foram avaliadas por One-Way ANOVA com $P < 0,05$. Tratamentos crônicos com 5 doses de 50 µg/Kg; 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg; 2 e 5 doses de 150 µg/Kg causaram retardo do esvaziamento gástrico (EG) ($P < 0,05$). Duas e 5 doses de 150 µg/kg induziram constipação e houve redução da latência térmica após 1 dose de 50 µg/Kg, 100 µg/Kg e 150 µg/kg ($P < 0,05$). O efeito da vincristina sobre o EG não foi evidenciado uma e duas semanas após o tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg ($P > 0,05$). Houve redução do tempo de latência ao calor por até duas semanas após 5 doses de 150 µg/Kg ($P < 0,05$). Vincristina potencializou a redução da FC induzida pela fenilefrina e aumentou a resposta cardíaca à atropina ($P < 0,05$). A neuropatia autonômica induzida pela vincristina cursa com retardo do EG, alterações na resposta baroreflexa e aumento do peso colônico. A neuropatia sensitiva precede o surgimento das alterações autonômicas e persiste após a reversão destas.

Palavras-chave: Síndromes Neurotóxicas. Doenças do Sistema Nervoso Autônomo. Vincristina.

ABSTRACT

A NEW MODEL OF DYSAUTONOMY INDUCED BY CHRONIC VINCRISTINE TREATMENT IN AWAKE RATS. Arnaldo Aires Peixoto Júnior. Supervisor: Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim. Post-Graduate Programme in Pharmacology, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, 2008.

Vincristine is a chemotherapy drug and its use is limited by peripheral neuropathy with autonomic, sensory and motor involvement. Vincristine sulphate or saline was injected into the tail vein at doses of 50 µg/Kg (5 doses), 100 µg/Kg (2-5 doses) or 150 µg/Kg (1, 2 or 5 doses) QOD in 144 male Wistar rats (200-250g). Next day, they were gavaged with a test meal and sacrificed 10 minutes later. Gastric and intestinal dye recovery was determined by spectrophotometry. Basal mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) and peak values of MAP and HR after i.v. phenylephrine 5 µg/Kg and atropine 0.5 mg/Kg were used to evaluate the baroreflex responses. Differences were evaluated by One-Way ANOVA with $P < 0.05$. Chronic treatment with 5 doses of 50 µg/Kg; 3, 4 and 5 doses of 100 µg/Kg; 2 and 5 doses of 150 µg/Kg delayed gastric emptying (GE) ($P < 0.05$). Two and 5 doses of 150 µg/Kg induced constipation and reduction in withdrawal latencies occurred after 1 dose of 50 µg/Kg, 100 µg/Kg and 150 µg/Kg ($P < 0.05$). Vincristine (150 µg/Kg) immediately decreased fecal output ($P < 0.05$). The effect of vincristine on the GE was not present in rats treated with 5 doses of vincristine 150 µg/kg one week and two weeks after the last dose ($P > 0.05$). The withdrawal latency decrease lasted for at least 2 weeks after 5 doses of 150 µg/Kg ($P < 0.05$). Vincristine enhanced the HR reduction induced by phenylephrine and enhanced cardiac response to atropine ($P < 0.05$). Vincristine-induced autonomic neuropathy courses with delayed GE, altered baroreflex responses and increased colonic weight. Sensory neuropathy preceded and outlasted these autonomic changes.

Keywords: Neurotoxicity Syndromes. Autonomic Nervous System Diseases. Vincristine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta pervinca de Madagascar (<i>Catharantus roseus</i>).....	17
Figura 2. Fórmula estrutural da vincristina.....	18
Figura 3. Efeito do tratamento agudo com vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	47
Figura 4. O tratamento crônico com 5 doses de 50 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido.....	54
Figura 5. O tratamento crônico com 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa inibe o esvaziamento gástrico em ratos acordados.....	55
Figura 6. O tratamento crônico com 3 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	56
Figura 7. O tratamento crônico com 4 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	57
Figura 8. O tratamento crônico com 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	58
Figura 9. Efeito do tratamento crônico com 1, 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico em ratos acordados.....	59
Figura 10. O tratamento crônico com 1 dose de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa inibe o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	60
Figura 11. O tratamento crônico com 2 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	61

Figura 12. O tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados.....	62
Figura 13. Efeito do tratamento crônico com 5 doses de 50 µg/Kg; 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg; e 1, 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados sobre o peso dos cólons.....	63
Figura 14. Efeito do tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados sobre os cólons de ratos acordados.....	64
Figura 15. Efeito do tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados sobre o peso diário das fezes.....	65
Figura 16. Diminuição do tempo de latência térmica avaliada 24 horas após a 1ª, 3ª e 5ª dose de 50 µg/Kg, 100 µg/Kg e 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em ratos acordados.....	66
Figura 17. Peso corporal em ratos avaliados 24 horas após a 1ª, 3ª e 5ª dose de 50 µg/Kg, 100 µg/Kg e 150 µg/Kg de vincristina ou salina intravenosa em ratos acordados.....	67
Figura 18. Diarréia (A), pilo-ereção (B) e marcha neuropática tipo <i>toe-walking gait</i> (C) em ratos acordados tratados com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa.....	68
Figura 19. Correlação entre a inibição do esvaziamento gástrico, aumento do peso dos cólons e diminuição do tempo de latência térmica em ratos acordados, sacrificados um dia, uma e duas semanas após o tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados.....	71
Figura 20. Reversão da perda de peso corporal em ratos acordados um dia, uma e duas semanas após a última dose do tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados.....	73
Figura 21. Efeito da depleção da função do sistema nervoso simpático com guanetidina sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados, tratados com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina ou solução salina intravenosa em dias alternados.....	75

Figura 22. Aumento da pressão arterial média e redução da frequência cardíaca após a administração intravenosa de fenilefrina 5 µg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados.....**79**

Figura 23. Variação da frequência cardíaca após a administração intravenosa de fenilefrina 5 µg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados.....**81**

Figura 24. Ganho (razão entre a variação da frequência cardíaca e a da pressão arterial) após a administração intravenosa de fenilefrina 5 µg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados.....**82**

Figura 25. Pressão arterial média e frequência cardíaca antes (basal) e após a administração intravenosa de atropina 0,5 mg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados.....**83**

Figura 26. Variação da frequência cardíaca após a administração intravenosa de atropina 0,5 mg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados.....**85**

LISTA DE ABREVIATURAS

DL₅₀ – Dose letal para 50% da população

DT – Fragmento correspondente a 30% distal do intestino delgado

EG – Esvaziamento gástrico

ES – Estômago

GT – Guanetidina

MD – Fragmento correspondente a 30% medial do intestino delgado

N – Número de animais

PC – Peso dos cólons

PF – Peso das fezes

PR – Fragmento correspondente a 40% proximal do intestino delgado

SL – Solução salina

TGI – Trato gastrintestinal

TI – Trânsito intestinal

TL – Tempo de latência

VC – Vincristina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Histórico e importância dos alcalóides da Vinca.....	15
1.2	Efeito farmacológico da vincristina.....	19
1.3	Alterações gastrintestinais associadas à vincristina.....	21
1.4	Alterações neurológicas associadas à vincristina.....	23
1.5	Alterações em outros sistemas associadas à vincristina.....	29
2	OBJETIVOS.....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4	RESULTADOS.....	46
5	DISCUSSÃO.....	86
6	CONCLUSÕES.....	102
	REFERÊNCIAS.....	103
	ANEXOS.....	116

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico e importância dos alcalóides da Vinca

A vincristina é um alcalóide natural, derivado da planta pervinca de Madagascar, antigamente denominada de *Vinca rosea* Linn., sendo atualmente chamada de *Catharantus roseus* (Figura 1). Esta é uma espécie de murta da família das Apocyanaceae, popularmente conhecida em nosso meio como Boa-noite (KLENER, 1974; CHABNER *et al.*, 1999).

Inicialmente, a planta pervinca foi usada para o tratamento de diversos males em várias partes do mundo e, em especial, pelos povos indígenas do Brasil, Filipinas e da região sul da África. Seu efeito sobre a limpeza e cicatrização de feridas, no controle de sangramentos e no tratamento de odontalgias, fez com que o extrato da planta passasse a ser usado para fins medicinais (PECKOLT, 1910; JOHNSON *et al.*, 1963).

Porém, somente após estudos sistemáticos de pesquisadores canadenses e americanos em 1957, é que o efeito da infusão e do extrato da *Vinca rosea* para fins medicinais passou a ser reconhecido pela comunidade científica. Em 1963, devido seu efeito hipoglicemiante, começou a ser industrializado e indicado para o tratamento de diabetes mellitus (JOHNSON *et al.*, 1963).

Apesar dos investimentos da indústria farmacêutica na comercialização do extrato da Vinca para fins de tratamento de diabetes mellitus, alguns autores alertaram sobre o seu efeito modesto deste extrato como hipoglicemiante oral e sobre o tóxico depressor dos alcalóides da Vinca na medula óssea, resultando em leucopenia periférica importante (CUTTS *et al.*, 1957; NOBLE *et al.*, 1958; SVOBODA *et al.*, 1962).

Estudos sobre os efeitos mielotóxicos do extrato da Vinca resultaram no fracionamento e isolamento de aproximadamente 26 alcalóides derivados da *Vinca rosea*. Destes, apenas 4 alcalóides diméricos, foram identificados como agentes com intensa atividade biológica: vincristina, vinblastina, vinleurosina e vinrosidina (SVOBODA *et al.*, 1959).

Johnson *et al.* (1959) demonstraram o efeito de alcalóides da Vinca sobre neoplasias linfocíticas agudas em camundongos, despertando o interesse da

comunidade científica para a ação anti-neoplásica destes derivados (Johnson *et al.*, 1959).

A vinleurosina e a vinrosidina não se mostraram adequadas para o uso clínico, por conta da elevada toxicidade mesmo após administração de doses terapêuticas. Com isso, os estudos experimentais e clínicos passaram a ser concentrados em dois alcalóides: a vinblastina e a vincristina (CHABNER *et al.*, 1999).

Apesar de sua maior toxicidade sistêmica quando comparada à vinblastina, a vincristina tem sido mais amplamente usada como quimioterápico (NÉMETH *et al.*, 1970; CHABNER *et al.*, 1999). Esta é um alcalóide extraído diretamente da planta pervinca, com estrutura química composta por dímeros assimétricos (Figura 2).

Outro agente, também derivado da *Vinca rosea*, a vinorelbina, com atividade biológica descrita em 1995, vem sendo usada no tratamento de cânceres de pulmão e mama (BUDMAN, 1997).



Figura 1 - Planta pervinca de Madagascar (*Catharanthus roseus*)

Fonte: UNIVERSIDADE DO PORTO. Faculdade de Farmácia (2005-2006)

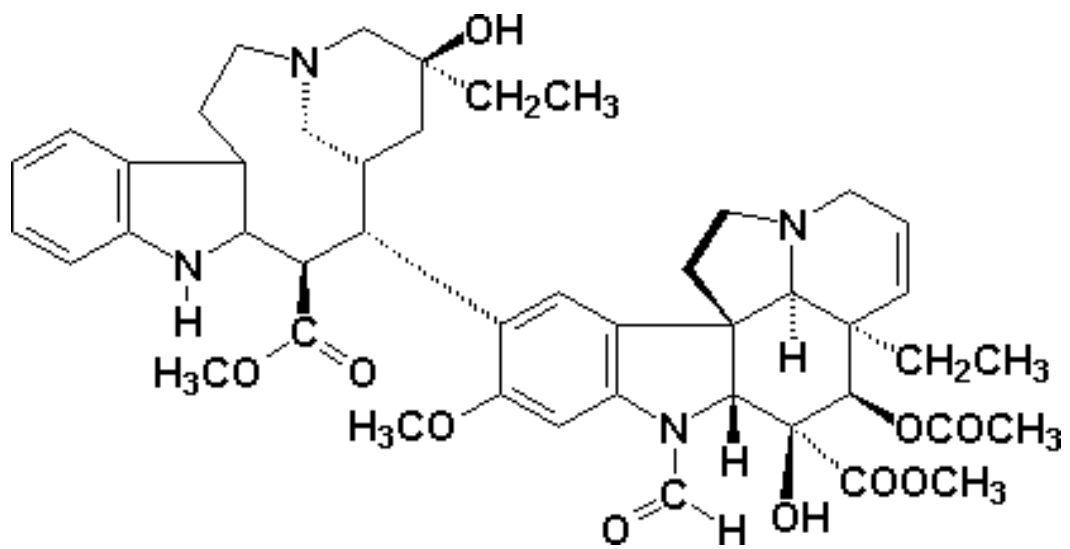


Figura 2 - Fórmula estrutural da vincristina
Fonte: THE CHEMICAL HERITAGE FOUNDATION (2001)

1.2 Efeito farmacológico da vincristina

A vincristina é usada em combinação com outros quimioterápicos ou corticóides no tratamento de leucemias, linfomas e tumores sólidos como tumor de Wilms, neuroblastoma, tumores cerebrais, rabdomiosarcoma, carcinoma de mama, de bexiga e do sistema reprodutivo masculino e feminino (CHABNER *et al.*, 1996). Este quimioterápico é administrado por via intravenosa, sob a forma de *bolus* ou infusão contínua. O extravasamento vascular resulta em irritação e necrose tecidual, devendo ser evitado (SCHULMEISTER, 2004). Em humanos, sua aplicação é feita com diluição de 1 mg/ml, uma vez por semana e a dose semanal preconizada é de 1,4 mg/m² de área corporal, podendo chegar a 2 mg/m² (VERSTAPPEN *et al.*, 2005). Dose e duração do tratamento dependem do tipo de neoplasia, protocolo terapêutico e idade do paciente (CHABNER *et al.*, 1996).

Farmacocinética

Estudos de farmacocinética em pacientes com câncer mostraram que cerca de 30 minutos após a administração intravenosa de vincristina, esta é eliminada em até 90% da corrente sanguínea, permanecendo ligada reversivelmente aos tecidos (KLENER, 1974). A queda dos níveis sanguíneos de vincristina, após a administração intravenosa (sulfato de vincristina), ocorre de forma tri-fásica, com meia-vida inicial de 5 minutos, intermediária de 2 horas e 18 minutos e final de 85 horas. A variação da meia-vida final no homem é de 19 a 155 horas (SCHULMEISTER, 2004).

Estudos sobre distribuição e metabolismo da vincristina também foram realizados em animais. Em ratos, o pico sérico ocorre 15 minutos após a administração de vincristina e a meia-vida plasmática é de 100 minutos. A distribuição tecidual ocorre principalmente no fígado, rim e baço, atingindo concentração máxima cerca de 1 hora após a administração (EI DAREER *et al.*, 1977).

Aproximadamente 45% da vincristina permanece ligada às proteínas plasmáticas e seu metabolismo é hepático, podendo a disfunção do fígado limitar o seu uso (ZHOU; RAHMANI *et al.*, 1992). Pacientes com níveis de bilirrubina sérica superiores a 3 mg/dl devem receber apenas 50 a 75% da dose usual e a

administração de substâncias indutoras ou inibidoras do citocromo P-450 como a fenitoína podem afetar a farmacocinética e a toxicidade da vincristina (SCHAUMBURG, 2000).

Estudos em animais e em humanos indicam que a vincristina tem penetração limitada no sistema nervoso central (JOHNSON *et al.*, 1963; EI DAREER *et al.*, 1977). A concentração de vincristina no líquido cefalorraquidiano costuma ser 20 a 30% inferior à concentração encontrada no plasma. A alta incidência de neuropatia periférica induzida por vincristina e os escassos relatos sobre toxicidade no sistema nervoso central sugerem uma baixa penetração deste quimioterápico através da barreira hemato-encefálica (JACKSON *et al.*, 1988).

O sistema biliar é a principal via de excreção e a circulação entero-hepática da vincristina pode resultar em exposição prolongada dos tecidos, favorecendo a toxicidade da droga (SCHAUMBURG, 2000). Apenas uma pequena quantidade da droga, menos de 15%, é eliminada pelo rim, sendo encontrada na forma inalterada na urina. O clearance médio no adulto é de 189ml/min/m² de área corporal, enquanto na criança, a depuração é bem maior, chegando a 482ml/min/m² (CROM *et al.*, 1994).

De acordo com estudos experimentais realizados, animais menores toleram doses relativamente maiores de vincristina. A DL₅₀ da vincristina, administrada por via intravenosa, em ratos é de 1,3 mg/Kg de peso e estes animais morrem após tratamento com doses de 0,5mg/Kg por dia, após 10 dias. Enquanto isto, a DL₅₀ em camundongos chega a ser de 5,2 mg/Kg e, em gatos, a administração de vincristina na dose de 0,025 mg/Kg por 13 dias resulta em óbito do animal (ADAMSON *et al.*, 1965).

Farmacodinâmica

Sua ação antineoplásica se deve ao efeito sobre a mitose, resultando em inibição desta, com parada do ciclo celular na fase de metáfase (SAVEL *et al.*, 1964). A vincristina se liga especificamente com a tubulina e bloqueia a capacidade de polimerização de suas subunidades, afetando a formação dos microtúbulos (HIROSE; TAKIGUCHI, 1995).

Na ausência de um fuso mitótico intacto, os cromossomos podem se dispersar, o que é chamado de explosão mitótica, ou podem se aglomerar, levando presumivelmente à morte celular (SMETS, 1994).

Embora o seu efeito citotóxico primário seja descrito classicamente como uma parada do ciclo celular em metáfase, há evidências de que a vincristina também tem efeito sobre células que não estão em proliferação, fora da fase de mitose, e que estão na fase S e na fase G1 do ciclo celular, particularmente após doses elevadas deste quimioterápico (MADOC-JONES; MAURO, 1968).

A ação da vincristina nos microtúbulos afeta não somente as células em proliferação, comprometendo a formação dos fusos mitóticos, mas também altera células que não estão em proliferação, interferindo na quimiotaxia, fagocitose, adesão celular, transporte axonal e em proteínas de membrana. Os efeitos colaterais dos alcalóides da Vinca parecem estar associados a alterações destas funções (CHABNER *et al.*, 1996).

1.3 Alterações gastrintestinais associadas à vincristina

Alterações gastrintestinais são frequentemente associadas ao uso terapêutico da vincristina. A constipação é a manifestação mais referida e, portanto, a motilidade colônica tem recebido atenção especial na maioria dos estudos (EVANS, 1968; EVANS *et al.*, 1963; HAGGARD *et al.*, 1968). Há relato de casos dramáticos de constipação aguda em humanos, iniciando-se 4 a 72 horas após a primeira dose e persistindo por vários dias (HARRIS; JACKSON, 1977). Sandler *et al.* (1969) encontrou uma incidência de 46% de queixas gastrintestinais, caracterizadas por dor abdominal leve e/ou constipação em uma série de 50 pacientes, após o terceiro dia de tratamento com vincristina, além de encontrar íleo paralítico na radiografia simples de abdome em 25% destes indivíduos estudados.

Alguns experimentos em animais reproduziram este fenômeno associado à vincristina, guardando uma semelhança considerável com o que acontece em humanos, com uma constipação transitória, iniciando-se após 48 horas do início do tratamento e permanecendo por até quatro dias (JOHNSTON *et al.*, 1985). Neste mesmo modelo, foi observado que, além de um peso colônico aumentado, com fezes impactadas, ocasionalmente observa-se um estômago repleto de alimentos não digeridos. Tais achados sugerem uma alteração da motilidade do trato

gastrointestinal alto após a administração de uma única dose de 0,2 mg/Kg de vincristina intraperitoneal. Estudo realizado por Uy *et al.* (1967), objetivando avaliar neurotoxicidade em ratos, encontrou além de uma incidência de 80 a 100% de anormalidades histológicas em nervos periféricos, uma incidência também elevada de distensão abdominal e parada nas contrações abdominais, após tratamento com 1 mg/Kg de vincristina intravenosa.

Apesar da queixa comum de constipação, alguns pacientes referem sintomas sugestivos de acometimento do trato gastrointestinal superior. Dentre estas manifestações, destacam-se náuseas, dores abdominais, anorexia e, em casos mais graves, íleo paralítico e gastroparesia (TOGHILL; BRUKE, 1970; ROSEMBERG; CARIDI, 1983; TOMOMASA *et al.*, 1999). Casos extremos de íleo paralítico grave têm sido relatados com freqüência na literatura (KAUFMAN *et al.*, 1976; JACKSON *et al.*, 1982; IKEHARA, 1992).

Poucos trabalhos foram realizados com o intuito de investigar as alterações do trato gastrointestinal alto durante o tratamento com este quimioterápico. Um estudo em ratos revelou um aumento desordenado da atividade elétrica no intestino delgado 50 minutos após a administração de vincristina intravenosa nas doses de 500 µg/Kg e 750 µg/Kg (SNINSKY, 1987). Entretanto, este achado foi associado a um atraso no trânsito intestinal. Este mesmo trabalho encontrou o reaparecimento, com redução da periodicidade, do complexo motor migratório 70 minutos após a administração, associado a um aumento do trânsito intestinal (SNINSKY, 1987).

Outro estudo mais recente avaliou a motilidade gástrica através de monitorização mecânica. Este revelou um aumento significativo na freqüência das contrações gástricas e no índice de motilidade duas horas após a administração de vincristina, seguido por uma redução no índice de motilidade e na amplitude das contrações um dia após o tratamento, com reversão completa deste efeito no terceiro dia (KANeko *et al.*, 2001).

As alterações gastrointestinais relacionadas à vincristina, em particular o comprometimento da motilidade, têm sido associados a uma possível neuropatia autonômica (SANDLER *et al.*, 1969; HAGGARD *et al.*, 1968; KAPLAN; WIERNIK, 1982). Johnston *et al.* (1985) realizou um estudo com imunohistoquímica em estômago, duodeno e cólon de ratos após a administração de 0,2 mg/Kg de vincristina intraperitoneal. Foi observada uma redução de 50% na densidade da imunoexpressão de gastrina em células do estômago, de 5-hidroxitriptamina no

duodeno e de glucagon no cólon 72 horas após o tratamento. Entretanto, estes autores não identificaram uma relação entre esta redução da imunoexpressão e alterações na motilidade gastrintestinal.

Alguns autores chegaram a relatar degeneração do plexo mioentérico após tratamento com vincristina, assim como após outros alcalóides da vinca como vinblastina, em humanos e animais (GOTTSCHALK *et al.*, 1968; SMITH, 1967). Porém, estudos investigando o efeito deste quimioterápico sobre a célula muscular lisa intestinal não foram realizados. Os resultados de Kaneko *et al.* (2001) reforçam a hipótese de uma alteração neural, uma vez que as células da musculatura lisa do intestino mantêm uma resposta normal ao estímulo com acetilcolina, mesmo após tratamento com vincristina.

1.4 Alterações neurológicas associadas à vincristina

A neuropatia é uma das complicações mais freqüentemente associada ao tratamento com vincristina, acometendo quase todos os pacientes que receberam este quimioterápico, mesmo que transitoriamente (WEISS *et al.*, 1974). Este efeito adverso parece estar associado ao total de doses recebidas, freqüência das administrações e duração do tratamento (CASEY *et al.*, 1973; BRADLEY *et al.*, 1970; DESAI *et al.*, 1970).

Manifestações neurológicas

O uso clínico de doses mais elevadas deste antineoplásico é limitado devido ao desenvolvimento de neuropatia mista sensitivo-motora (SANDLER *et al.*, 1969; HOLLAND *et al.*, 1973). Esta parece ocorrer em dois estágios. Inicialmente há dano axonal predominantemente sensitivo, sem perda de neurônios, determinando parestesias e disestesias. Em um estágio mais tardio, geralmente após doses elevadas e por longos períodos de tratamento, há perda axonal e da função motora (WEISS *et al.*, 1974; KAPLAN; WIERNIK, 1982; MCCARTHY; SKILLINGS, 1992).

Parestesia dolorosa e disestesia indicam a presença de neuropatia sensitiva, que pode ser permanente. Porém, na maioria dos casos, há reversão total ou parcial após suspensão do tratamento. As alterações sensitivas ocorrem por

comprometimento de nervos periféricos distais e usualmente precedem as alterações autonômicas (GOTTLIEB *et al.*, 1971).

A perda dos reflexos tendinosos profundos, em especial a depressão do reflexo do tendão de Aquiles, é uma das primeiras indicações de neurotoxicidade motora, podendo ser acompanhada de mialgia proximal, fraqueza de musculatura distal e atrofia. Eventualmente pode haver comprometimento motor mais significativo, com fraqueza generalizada e quadriparesia (MORESS *et al.*, 1967).

O acometimento do sistema nervoso autonômico tem sido utilizado como justificativa para a constipação intestinal, retenção urinária e hipotensão ortostática em pacientes tratados com vincristina, embora estudos de neurofisiologia e de histologia para confirmar o mecanismo proposto não tenham sido realizados.

A constipação e o íleo paralítico são as supostas alterações autonômicas mais frequentemente descritas (GUBISCH *et al.*, 1963; WHITELAW *et al.*, 1963; BOHANNON *et al.*, 1963; EVANS, 1968; EVANS *et al.*, 1963; HAGGARD *et al.*, 1968). Há relatos na literatura sobre íleo paralítico com desfecho fatal após dose elevada de vincristina em humanos, mesmo na ausência de evidências de neuropatia periférica (TOGHILL *et al.*, 1970).

Disfunção urinária também tem sido relatada durante o tratamento com vincristina em humanos, podendo se manifestar como leve dificuldade em iniciar a micção até completa atonia vesical, sem associação com neuropatia periférica (GOTTLIEB *et al.*, 1971).

A incidência de hipotensão ortostática durante tratamento com vincristina pode variar de 4%, em estudos retrospectivos (CARMICHAEL *et al.*, 1970), até 51% em estudos prospectivos onde os indivíduos tratados foram submetidos a testes específicos para avaliar a presença de hipotensão ortostática (ROCA *et al.*, 1985). O mecanismo envolvido na alteração da regulação dos níveis de pressão arterial em indivíduos tratados com vincristina não é conhecido. Estudos experimentais mostraram que este quimioterápico, assim como outras substâncias que afetam os microtúbulos, inibe a liberação de catecolaminas induzida pela nicotina na glândula adrenal bovina (POISNER; BERNSTEIN, 1971), podendo ser este um dos mecanismos envolvidos na disfunção cardiovascular autonômica pela vincristina (ROCA *et al.*, 1985).

Recuperação espontânea das alterações somáticas, vesicais e intestinais após a suspensão da vincristina tem sido descrita (SANDLER *et al.*, 1969;

JOCNIMSEN, 1982), porém não há estudos sobre o comportamento temporal da disautonomia cardiovascular.

O comprometimento de nervos cranianos como efeito adverso da vincristina é descrito, porém com uma frequência menor do que as neuropatias periférica e autonômica. Manifestações oculares como oftalmoplegia e ptose são mais comuns (ALBERT *et al.*, 1967).

Dor paroxística na região maxilar e perda do reflexo corneano têm sido relatadas em pacientes submetidos a tratamento oncológico com este quimioterápico, sugerindo acometimento do nervo trigêmio (HEYN *et al.*, 1966; WINDMILLER *et al.*, 1966). Paralisia facial (HAGGARD *et al.*, 1968) e rouquidão (JOHNSON *et al.*, 1963; BOHANNON *et al.*, 1963) também foram associadas à neurotoxicidade pela vincristina.

Efeitos da vincristina sobre o sistema nervoso central não têm sido relatados com frequência, embora haja descrição na literatura de hiponatremia associado à síndrome da secreção inapropriada do hormônio anti-diurético durante o tratamento (SLATER *et al.*, 1969; FINE *et al.*, 1966; OLDHAM *et al.*, 1972; MERIWETHER, 1971; CUTTING, 1971; NICHOLSON; FELDMAN, 1972), chegando inclusive a deflagrar coma hiponatrêmico (SUSKIND *et al.*, 1972). No entanto, não há dados convincentes que indiquem se esta alteração é relacionada a um efeito direto da vincristina sobre o sistema nervoso central e o mecanismo ainda é, portanto, desconhecido.

Depressão, agitação, alucinações e convulsões têm sido descritas em pacientes tratados com este quimioterápico, porém a relação causal entre o uso da droga e a toxicidade central não teve consistência (KARON *et al.*, 1962; LASSMAN *et al.*, 1965; POSNER, 1971; JOHNSON *et al.*, 1973; PANOFF, 1971).

Estudos realizados por Serafy e Hashash (1981) com coelhos tratados sistemicamente com vincristina revelaram destruição das células sensoriais do órgão de Corti, assim como também das células do gânglio espiral. Em humanos, há relatos de episódios súbitos de perda auditiva tipo sensorineural com melhora gradual, sugerindo ototoxicidade pelo uso deste quimioterápico (MAHAJAN *et al.*, 1981).

A melhora dos efeitos adversos associados à vincristina sobre o sistema nervoso começa com a suspensão do tratamento (SANDLER *et al.*, 1969). As parestesias são as mais prontamente revertidas, seguida pelas alterações motoras.

A melhora do retardo dos reflexos tendíneos ocorre de forma mais lenta, e muitas vezes parcialmente. A maioria dos pacientes tratados com vincristina permanece com queixas, ainda que leves, sugestivas de neuropatia periférica como parestesia ou paralisia de dedos, mesmo após a suspensão do quimioterápico (CASEY *et al.*, 1973; BERENSON, 1971).

Neurofisiologia

Estudos eletrofisiológicos e de microscopia têm confirmado um predomínio de alterações sugestivas de neuropatia axonal.

A eletroneuromiografia não revelou alteração na velocidade de condução neural ou na transmissão neuromuscular em humanos e em animais (CASEY *et al.*, 1973; BRADLEY *et al.*, 1970; McLEOD *et al.*, 1969), sugerindo o comprometimento axonal.

Alguns autores propuseram que a vincristina poderia ter uma ação sobre o fuso muscular, causando depressão do reflexo tendíneo. Trabalhos realizados em pacientes tratados com este quimioterápico revelaram que quando os indivíduos perdiam o reflexo de Aquiles, o reflexo H permanecia intacto. Este reflexo envolve a mesma via sensorial e motora do tendão de Aquiles, porém através de um *by-pass*, não passando pelo fuso muscular (CASEY *et al.*, 1973; SANDLER *et al.*, 1969; TOBIN *et al.*, 1968).

Estudos de eletrofisiologia em ratos, após a indução de neuropatia dolorosa por tratamento com vincristina sistêmica (100 µg/Kg) por duas semanas, revelaram que durante o pico de hiperalgesia mecânica, metade das fibras-C nociceptivas em nervos periféricos eram hiperresponsivas ao estímulo mecânico e a velocidade de condução das fibras-A e fibras-C estavam significativamente reduzidas (TANNER *et al.*, 1998).

Neuropatologia

O efeito anti-neoplásico da vincristina se deve a ação sobre a dinâmica do fuso mitótico, prevenindo a divisão celular (OLMSTED; BORISY, 1973; HIMES *et al.*, 1976; OWELLEN *et al.*, 1976; JORDAN *et al.*, 1992; LOBERT *et al.*, 1996). Porém o efeito neurotóxico provavelmente é devido à ação da vincristina sobre os

microtúbulos neuronais, resultando em prejuízo no transporte axonal em nervos periféricos (SHELANSKI; WIŚNIEWSKI, 1969; BRADLEY *et al.*, 1970; CASEY *et al.*, 1973; WEISS *et al.*, 1974).

Os neurônios periféricos são mais sensíveis à ação deste anti-neoplásico. A função destes neurônios depende do transporte axonal e da integridade das terminações periféricas (SHELANSKI and WIŚNIEWSKI, 1969). As parestesias e disestesias, mais pronunciadas em extremidades, se devem à disfunção dos neurônios sensitivos distais, os quais são mais longos e provavelmente mais sensíveis à alteração no transporte axonal.

Entretanto, não há estudos sobre o comprometimento dos gânglios da raiz dorsal secundário ao tratamento com vincristina, efeito descrito em outros quimioterápicos, tais como a cisplatina (KRARUP-HANSEN *et al.*, 2007).

Estudos histológicos em humanos tratados com vincristina revelaram o acometimento primariamente de nervos periféricos, com degeneração axonal primária (BRADLEY *et al.*, 1970).

Estes achados também foram vistos em modelos experimentais tratados com vincristina (GOTTSCALK *et al.*, 1968), porém um grau variável de miopatia tóxica foi associado à administração deste quimioterápico em algumas espécies de animais (ANDERSON *et al.*, 1967; SLOTWINER *et al.*, 1966; CLARKE *et al.*, 1972).

Achados de microscopia eletrônica em culturas de neurônios e em animais tratados com vincristina evidenciaram dano axonal caracterizado por degeneração neurofibrilar (SCHOCHET *et al.*, 1968; SHELANSKI *et al.*, 1969). Esta degeneração axonal tem sido associada a alterações nos mecanismos de transporte axonoplasmático e, portanto a toxicidade neural (WISNIEWSKI *et al.*, 1970; SCHLAEPFER, 1971). Porém, estudos sobre o grau de degeneração e desorientação dos microtúbulos e sua associação com as funções do citoesqueleto como transporte axonal ainda não foram realizados.

Estudos *in vitro*, com exposição direta de nervos seccionados a vincristina também induziu desorganização dos microtúbulos axonais, os quais normalmente estão longitudinalmente alinhados (SAHENK *et al.*, 1987).

Modelos animais de neuropatia associada à vincristina também revelaram desorientação dos microtúbulos sem redução concomitante do número de microtúbulos por axônio (GREEN *et al.*, 1977; TANNER *et al.*, 1998).

Os mecanismos pelos quais os microtúbulos axonais se tornam desorganizados não é conhecido, porém pode ser associado a uma despolimerização parcial, resultando em microtúbulos menores (GREEN *et al.*, 1977; DUSTIN, 1984). Altas doses de alcalóides da Vinca promovem a despolimerização de microtúbulos axonais e a formação de paracristais de tubulina quando aplicados localmente no axônio tanto *in vitro* (SAHENK *et al.*, 1987) como *in vivo* (SHELANSKI; WIŚNIEWSKI, 1969).

A possibilidade de estes microtúbulos menores não se ligarem ao citoesqueleto adjacente ou aos elementos membranosos foi aventada como causa da desorganização destes, após exposição à vincristina (ROBSON; BURGOYNE, 1988).

A neuropatia periférica associada à vincristina ocorre sem danos morfológicos grosseiros e sem perda axonal. Portanto, a desorganização dos microtúbulos tem sido associada às anormalidades na função nociceptiva e à hiperalgesia (TANNER *et al.*, 1998). Os microtúbulos axonais estão envolvidos no transporte axonal de componentes celulares, anterogradamente e retrogradamente (SHEETZ *et al.*, 1989; ALLAN; VALE, 1991; CLEVELAND; HOFFMAN, 1991; SHEETZ; MARTENSON, 1991; HIROKAWA, 1993). É postulado que a desorganização no citoesqueleto poderia produzir alterações nas proteínas presentes nas terminações nervosas, resultando em mudanças na excitabilidade dos nociceptores. Segundo alguns autores, este pode ser um dos mecanismos envolvidos na neuropatia sensitiva associada à vincristina (TANNER *et al.*, 1998). Entretanto, não há estudos demonstrando alterações no transporte axonal após desorganização no citoesqueleto neural devido vincristina.

Alterações em outros sistemas associadas à vincristina

A vincristina atua sobre o ciclo celular, ocasionando alterações sobre a estrutura e fisiologia de vários tecidos. Embora nas neoplasias este efeito seja desejável, a ação deste fármaco sobre outros tecidos pode resultar em prejuízo para o paciente, ocasionando morbidades e eventualmente a morte.

Um efeito da vincristina, descrito desde os primeiros estudos sobre sua ação, é a mielosupressão. Este efeito não é considerado limitante e tem motivado o seu uso terapêutico sobre as neoplasias da linhagem hematológica. Tem sido descrita

trombocitopenia, anemia e leucopenia transitórias durante tratamento com vincristina. Porém aplasia de medula óssea grave está associada principalmente com superdosagem deste quimioterápico (SCHAUMBURG, 2000).

Alopecia tem sido descrita com uso de vincristina em doses terapêuticas (SELAURY; HANANIAN, 1963; HILDEBRAND; COËRS, 1965; SANDLER *et al.*, 1969; MCLEOD; PENNY, 1969; BRADLEY *et al.*, 1970; CASEY *et al.*, 1973). Esta é geralmente reversível e pode acometer 20% dos pacientes submetidos ao tratamento (SCHAUMBURG, 2000). Perda de peso transitória em humanos tem sido descrita também com uso deste quimioterápico (SELAURY; HANANIAN, 1963) e, assim como a alopecia, é vista também em modelos animais usados para estudo de toxicidade da vincristina.

O efeito deste quimioterápico sobre o sistema endócrino motivou alguns experimentos (NOBLE *et al.*, 1958; SVOBODA *et al.*, 1959). Ainda na metade do século passado, a infusão e o extrato da *Vinca rosea* chegou a ser industrializado e comercializado por alguns laboratórios para o tratamento de diabetes mellitus (JOHNSON *et al.*, 1963). Vincristina tem efeito variável sobre a liberação pancreática de glucagon (LECLEREG-MEYER *et al.*, 1974; ASSAN *et al.*, 1978) e insulina (DEVIS *et al.*, 1974; SHAH *et al.*, 1979, 1981). Em doses baixas e por curto período de tempo, este quimioterápico potencializa a secreção destes hormônios, enquanto o tratamento com vincristina em doses elevadas e por longos períodos resulta em inibição da liberação. Em humanos, doses terapêuticas de vincristina reduziram em 40% a resposta insulínica à infusão intravenosa de 5 g de glicose (CAVIEZEL *et al.*, 1977).

Ainda em relação ao efeito sobre o sistema endócrino, estudos realizados em ratas mostraram que a vincristina tem efeito anti-estrogênico (CUTTS *et al.*, 1960). Este efeito não foi confirmado em humanos.

Toxicidade cardíaca foi relatada em um estudo de Lassman *et al.* (1965), porém este efeito não é descrito por outros autores, provavelmente por ser incomum.

Tratamento de cobaios com vincristina resultou em miopatia nos estudos realizados por Bradley (1970). Estes animais apresentavam precocemente e após doses baixas de vincristina, corpúsculos espiralados no sarcoplasma, possivelmente derivados da degeneração do retículo sarcoplasmático. Cobaios submetidos ao tratamento crônico por duas semanas com vincristina se tornaram moribundos e apresentavam fraqueza dos membros posteriores, além de extensas alterações necróticas em

musculatura proximal. Em humanos, sinais físicos de miopatia como fadiga e fraqueza proximal são raros (BRADLEY *et al.*, 1970).

A vincristina tem como característica a facilidade em penetrar através da barreira placentária, podendo agir também sobre células e tecido embrionário.

Há descrições sobre efeitos teratogênicos como microftalmia, anoftalmia e até morte do embrião de mães tratadas com este quimioterápico durante a gestação, em particular durante o início do período gestacional quando as células do embrião ainda estão indiferenciadas (COHLAN, 1963). Entretanto, há vários relatos na literatura de gestantes tratadas com alcalóides da Vinca, que conceberam filhos sem malformações congênitas (ARMSTRONG *et al.*, 1964; ROSENZWEIG *et al.*, 1964; LACHER *et al.*, 1966; COOPLAND *et al.*, 1969). As revisões de literatura são controversas quanto à segurança do uso de vincristina durante a gestação. Apesar disto, a utilização de drogas anti-mitóticas como os alcalóides da Vinca neste período não é recomendada (SCHARDEIN, 1985).

2 OBJETIVOS

Alterações gastrintestinais relacionadas à vincristina têm sido citadas amplamente pela literatura. Entretanto, um modelo experimental para o estudo destas alterações, até então, não havia sido descrito. Além disso, nenhum trabalho foi realizado procurando identificar o comportamento das alterações gastrintestinais ao longo do tratamento com vincristina e a associação destas com alterações sensitivas e autonômicas.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar, em ratos acordados:

1. O efeito do tratamento agudo e crônico com vincristina sobre a motilidade gastrintestinal alta e baixa.
2. A associação entre alterações do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal de líquido e alterações no peso dos cólons induzidas por vincristina.
3. A associação entre alterações na sensibilidade térmica e alterações da motilidade gastrintestinal alta e baixa induzidas por vincristina.
4. A participação do sistema nervoso simpático nas alterações do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal de líquido induzidas por vincristina.
5. O efeito do tratamento crônico com vincristina sobre a resposta barorreflexa aos testes de avaliação de disautonomia cardiovascular.
6. Evidências de neurotoxicidade autonômica induzida por vincristina, através da relação entre alterações na motilidade gastrintestinal e na resposta barorreflexa.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos cirúrgicos e tratamentos experimentais foram conduzidos de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação de Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) (Declaração em anexo). Os experimentos foram realizados em laboratórios, procurando atenuação de som e mantendo-se a temperatura em estabilidade com ar-condicionado (20-22°C).

Protocolo 1

Estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados e submetidos a tratamento agudo com vincristina intravenosa.

Os resultados dos experimentos do protocolo 1 foram apresentados na XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Águas de Lindóia, Brasil, 2006 (05.006), na II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Recife, Brasil, 2007, foram aceitos para apresentação no *American Academy of Neurology 60th Annual Meeting, Chicago, IL* em 12 a 19 de abril de 2008 e publicação do resumo no periódico *Neurology* (resumos em anexo).

Tratamento farmacológico

A fim de realizarmos o estudo do efeito agudo da vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido, realizamos os experimentos deste protocolo com as mesmas doses utilizadas previamente por Sninsky (1987) e por Kaneko *et al.* (2001) para o estudo do efeito agudo da vincristina sobre a motilidade gastrintestinal.

Os experimentos foram realizados em 12 ratos Wistar, machos, pesando entre 170 e 240 g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água *ad libitum*.

Sulfato de vincristina foi administrado em 7 animais, por via intravenosa na veia da cauda na dose de 750 µg/Kg.

O subgrupo controle, formado por 5 animais, recebeu volume de salina de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência de volume.

O tratamento agudo foi realizado 60 minutos antes da medição do EG e do TGI de líquido com vincristina ou salina em dose única.

Fármaco

Sulfato de vincristina (Tecnocris®, Eurofarma/Zodiac Produtos Farmacêuticos S/A, São Paulo-SP) na concentração de 1 mg/ml foi diluído em salina até atingir a concentração de 45 µg/ml.

Medição do EG e do TGI de líquido

Um subgrupo de 12 ratos, sendo sete tratados com vincristina e cinco com salina, permaneceu em jejum durante 16 horas, antes da medição do EG e TGI, com livre ingestão de água até duas horas antes do procedimento.

A medição do EG e do TGI foi realizada utilizando uma modificação da técnica descrita por Reynell e Spray (1956), previamente utilizada em nosso laboratório (GONDIM *et al.*, 1999, 2001).

Uma refeição-teste com volume de 1,5 ml, contendo marcador não absorvível (0,5 mg/ml de uma solução de vermelho fenol em glicose a 5%) foi introduzida no estômago, mediante sonda oral por gavagem, sendo esta removida imediatamente após o término de sua administração.

Os animais foram sacrificados através de deslocamento cervical, 10 minutos após a administração da refeição teste. O estômago e o intestino delgado foram, em seguida, expostos, mediante laparotomia mediana, e clampeados de forma sucessiva ao nível de piloro, cárdia e íleo terminal, sendo em seguida removidos.

O estômago e o intestino delgado foram cuidadosamente estendidos, ao lado de uma fita métrica em uma mesa plana e divididos em 4 segmentos: estômago, 40% iniciais do intestino delgado, 30% mediais do intestino delgado e 30% terminais do intestino delgado.

Cada segmento foi homogeneizado durante 30 segundos, juntamente com 100 ml de NaOH 0,1N, colocado em uma proveta e o volume de cada um foi medido.

A suspensão foi deixada em repouso durante 20 minutos, à temperatura ambiente e 10 ml do sobrenadante foram centrifugados durante 10 minutos, a 2800 rpm.

Proteínas em 5ml de homogenato foram precipitadas, mediante adição de 0,5ml de ácido tricloroacético (20% wt:vol) e centrifugadas por mais 20 minutos, a 2800 rpm. Finalmente, 3ml do sobrenadante foi adicionado a 4ml de uma solução de NaOH 0,5 N, para a determinação da absorbância (ABS) das amostras, através da espectrofotometria (Spectronic 20 Genesys).

A absorbância da amostra foi lida a 560nm e expressa em densidades ópticas (D.O.). A percentagem de retenção de vermelho fenol em cada segmento (x) foi expressa de acordo com a seguinte fórmula: retenção no segmento x = quantidade de vermelho fenol recuperada no segmento / total de vermelho fenol recuperado em todos os quatro segmentos.

Análise estatística

Estatística descritiva foi aplicada para cada subgrupo do experimento, sendo os resultados expressos como média \pm erro padrão. Para comparação entre dois subgrupos foi usado o Teste “*t*” de Student-Newman-Keuls. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $P < 0,05$.

Protocolo 2

Estudo do esvaziamento gástrico, trânsito gastrintestinal de líquido, peso dos cólons, peso das fezes e latência térmica em ratos acordados e submetidos a tratamento crônico com vincristina intravenosa.

Os resultados dos experimentos do protocolo 2 foram apresentados na XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Águas de Lindóia, Brasil, 2006 (05.006), na II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Recife, Brasil, 2007, foram aceitos para apresentação no *American Academy of Neurology 60th Annual Meeting, Chigaco, IL* em 12 a 19 de abril de 2008 e publicação do resumo no periódico *Neurology* (resumos em anexo).

Tratamento farmacológico

No estudo do efeito crônico do tratamento com vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico, trânsito gastrintestinal de líquido, peso dos cólons, peso das fezes e tempo de latência ao calor em ratos acordados, foi utilizado o mesmo protocolo de tratamento descrito por Authier *et al.* (2003) para indução de neuropatia periférica em ratos.

Os experimentos foram realizados em 83 ratos Wistar, machos, pesando entre 170 e 250 g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água *ad libitum*.

Sulfato de vincristina foi administrado em 49 animais, por via intravenosa na veia da cauda, nas doses de 50, 100 ou 150 µg/Kg a cada dois dias. Os ratos submetidos ao tratamento crônico com vincristina foram divididos em sete subgrupos. Um subgrupo (N=5) recebeu 5 doses de vincristina 50 µg/Kg (total de 250 µg/Kg), quatro outros subgrupos receberam 2 (N=6), 3 (N=6), 4 (N=5) ou 5 (N=9) doses de vincristina 100 µg/Kg (200-500 µg/Kg) e 3 demais subgrupos 1 (N=5), 2 (N=6) e 5 (N=7) doses de vincristina (150-750 µg/Kg).

Os subgrupos controle, formados por um total de 34 animais, receberam volume de salina de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência de volume. O tratamento dos subgrupos controle foi realizado com 1 (N=6), 2 (N=8), 3 (N=5), 4 (N=5) ou 5 (N=5) doses de solução salina intravenosa, a cada dois dias.

Fármaco

Sulfato de vincristina (Tecnocris®, Eurofarma/Zodiac Produtos Farmacêuticos S/A, São Paulo-SP) na concentração de 1 mg/ml foi diluído em salina em concentrações de 15 µg/ml, 30 µg/ml e 45 µg/ml.

Medição do EG e do TGI de líquido

Para a medição do EG e do TGI de líquido, foi utilizada uma modificação da técnica descrita por Reynell e Spray (1956), descrita no protocolo 1.

A medição foi realizada 24 horas após a última dose do tratamento crônico com vincristina ou salina.

Os subgrupos de animais experimentais e controles permaneceram em jejum durante 16 horas, antes da medição do EG e TGI, com livre ingestão de água até duas horas antes do procedimento.

Medição do peso das fezes

Os animais foram deixados em gaiolas metálicas individuais, com livre acesso a água e comida antes, durante e após o tratamento crônico com vincristina ou salina. A evacuação dos animais foi avaliada através do peso das fezes, mensurado diariamente, a cada 24 horas.

Medição do peso dos cólons

Os cólons dos animais tratados cronicamente com vincristina intravenosa ou solução salina foram cuidadosamente retirados durante a laparotomia mediana. Estes segmentos foram pesados logo em seguida

Medição da latência térmica

Os subgrupos de animais tratados cronicamente foram submetidos ao teste de placa quente descrito por Eddy e Leimbach (1953) e modificado por O'Callaghan

e Holzman (1975) para determinar a latência térmica basal um dia antes e após a primeira, terceira e quinta dose de vincristina ou salina.

Os ratos foram colocados em uma superfície de placa quente (I.I.T.C. Life Science, Woodland Hills, CA) mantida em uma temperatura constante de $51 \pm 0.5^\circ\text{C}$. As repostas consideradas como reações de desconforto foram a elevação da pata traseira ou pulo. O tempo de latência foi definido como o intervalo entre a colocação do animal na placa até a primeira reação de desconforto. Este foi mensurado manualmente através de um cronômetro e estabelecido um *cutt-off* de tempo de 30 segundos. Hiperalgesia foi definida como uma redução no tempo de latência.

Análise estatística

Estatística descritiva foi aplicada para cada subgrupo do experimento, sendo os resultados expressos como média \pm erro padrão. O Teste One-Way Análise de Variância (ANOVA) seguido do Teste de Bonferroni foi usada para comparar médias entre os múltiplos subgrupos. Para comparação entre dois subgrupos foi usado o Teste “*t*” de Student-Newman-Keuls, enquanto a análise dos subgrupos antes, durante e após o tratamento foi realizada pelo Teste One-Way Análise de Variância (ANOVA) com Medidas Repetidas seguido do Teste de Holm-Sidak. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $P < 0,05$.

Protocolo 3

Estudo do esvaziamento gástrico, trânsito gastrintestinal de líquido, peso dos cólons e latência térmica em ratos acordados após uma e duas semanas de tratamento crônico com vincristina intravenosa (efeito residual).

Os resultados dos experimentos do protocolo 3 foram apresentados na XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Águas de Lindóia, Brasil, 2006 (05.006), na II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Recife, Brasil, 2007, foram aceitos para apresentação no *American Academy of Neurology 60th Annual Meeting, Chigaco, IL* em 12 a 19 de abril de 2008 e publicação do resumo no periódico *Neurology* (resumos em anexo).

Tratamento farmacológico

A fim de estudar o efeito residual do tratamento com vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico, trânsito gastrintestinal de líquido, peso dos cólons e tempo de latência ao calor, foram realizados os experimentos em 22 ratos Wistar, machos, pesando entre 190 e 260 g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água *ad libitum*.

Foram administradas 5 doses de vincristina 150 µg/Kg intravenosa a cada dois dias em 12 ratos. Os animais submetidos ao tratamento com vincristina foram divididos em dois subgrupos. Um subgrupo com cinco animais foi mantido vivo durante uma semana e depois submetido ao estudo do EG e do TGI de líquido. Outro subgrupo com sete animais foi mantido durante duas semanas até ser submetido ao mesmo estudo depois deste período.

O subgrupo controle, formado por um total de 10 animais, recebeu 5 doses de salina intravenosa a cada dois dias, com o volume de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência deste com o peso. Cinco animais foram sacrificados uma semana após e os outros cinco animais somente duas semanas após a última dose de salina, quando foi então realizada a medição do EG e do TGI de líquido.

Fármaco

Sulfato de vincristina (Tecnocris®, Eurofarma/Zodiac Produtos Farmacêuticos S/A, São Paulo-SP) na concentração de 1 mg/ml foi diluído em salina até atingir a concentração de 45 µg/ml.

Medição do EG e do TGI de líquido

Para a medição do EG e do TGI de líquido, foi utilizada uma modificação da técnica descrita por Reynell e Spray (1956), descrita no protocolo 1.

A medição foi realizada uma semana e duas semanas após a última dose do tratamento com vincristina ou salina.

Os subgrupos de animais experimentais e controles permaneceram em jejum durante 16 horas, antes da medição do EG e TGI, com livre ingestão de água até duas horas antes do procedimento.

Medição do peso dos cólons

Os cólons dos animais tratados com vincristina intravenosa ou solução salina foram cuidadosamente retirados durante a laparotomia mediana. Estes segmentos foram pesados logo em seguida.

Medição da latência térmica

Os subgrupos de animais tratados foram submetidos ao teste de placa quente descrito por Eddy e Leimbach (1953) e modificado por O'Callaghan e Holzman (1975) para determina a latência térmica basal um dia antes e após a primeira, terceira e quinta dose de vincristina. Com o intuito de avaliar o efeito neuropático residual, foi realizado o teste da placa quente uma e duas semanas após a última dose do quimioterápico

O tempo de latência e hiperalgesia foram estabelecidos conforme descrito no protocolo 1.

Análise estatística

Estatística descritiva foi aplicada para cada subgrupo do experimento, sendo os resultados expressos como média \pm erro padrão. O Teste One-Way Análise de Variância (ANOVA) seguida do Teste de Bonferroni foi usada para comparar médias entre os múltiplos subgrupos. Enquanto a análise dos subgrupos antes, durante e após o tratamento foi realizada pelo Teste One-Way Análise de Variância (ANOVA) com Medidas Repetidas seguido do Teste de Holm-Sidak. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $P < 0,05$.

Protocolo 4

Estudo da depleção da função do sistema nervoso simpático com guanetidina sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados após tratamento crônico com vincristina intravenosa.

Os resultados dos experimentos do protocolo 4 foram apresentados na XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Águas de Lindóia, Brasil, 2006 (05.006), na II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Recife, Brasil, 2007, foram aceitos para apresentação no *American Academy of Neurology 60th Annual Meeting, Chigaco, IL* em 12 a 19 de abril de 2008 e publicação do resumo no periódico *Neurology* (resumos em anexo).

Tratamento farmacológico

Com o intuito de estudar a participação das vias simpáticas sobre o aumento da retenção gástrica de corante induzido pela vincristina, foi realizado o experimento em 10 ratos Wistar, machos, pesando entre 190 e 240 g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água *ad libitum*.

Sulfato de vincristina foi administrado em 5 animais, por via intravenosa na veia da cauda na dose de 150 µg/Kg a cada dois dias. Este subgrupo recebeu um total de 5 doses.

O subgrupo controle, formado por um total de 5 animais, recebeu volume de salina de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência de volume. O tratamento dos subgrupos controle foi realizado com 5 doses de solução salina intravenosa, a cada dois dias.

Os subgrupos de animais tratados com vincristina ou salina foram submetidos ao bloqueio simpático com guanetidina intraperitoneal, na dose de 10 mg/Kg, aplicada uma hora antes do sacrifício para medição do EG e do TGI de líquido.

Fármacos

Sulfato de vincristina (Tecnocris®, Eurofarma/Zodiac Produtos Farmacêuticos S/A, São Paulo-SP) na concentração de 1 mg/ml foi diluído em salina até atingir a concentração de 45 µg/ml.

Sulfato de guanetidina (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) diluída em salina, na concentração de 20 mg/ml.

Medição do EG e do TGI de líquido

Para a medição do EG e do TGI de líquido, foi utilizada uma modificação da técnica descrita por Reynell e Spray (1956), descrita no protocolo 1.

A medição foi realizada 24 horas após a última dose do tratamento com vincristina ou salina e uma hora após o bloqueio simpático com guanetidina intraperitoneal.

Os subgrupos de animais experimentais e controles permaneceram em jejum durante 16 horas, antes da medição do EG e TGI, com livre ingestão de água até duas horas antes do procedimento.

Análise estatística

Estatística descritiva foi aplicada para cada subgrupo do experimento, sendo os resultados expressos como média \pm erro padrão. Para comparação entre os subgrupos foi usado o Teste One-Way ANOVA e Teste de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $P < 0,05$.

Protocolo 5

Estudo da resposta ao desafio pela administração de fenilefrina e atropina em ratos acordados submetidos ou não ao tratamento crônico com vincristina intravenosa (Estudo dos barorreflexos).

Os resultados dos experimentos do protocolo 5 foram aceitos para apresentação no *American Academy of Neurology 60th Annual Meeting, Chigaco, IL* em 12 a 19 de abril de 2008 e publicação do resumo no periódico *Neurology* (resumo em anexo).

Tratamento farmacológico

A fim de se evidenciar a presença de neuropatia autonômica induzida pela vincristina ao nível da regulação das respostas cardiovasculares, foi utilizado o protocolo de Dunlap *et al.* (1987).

Os experimentos foram realizados em 13 ratos Wistar, machos, pesando entre 190 e 240 g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água *ad libitum*.

Sulfato de vincristina foi administrado em 7 animais, por via intravenosa na veia da cauda, a cada dois dias. Os ratos submetidos ao tratamento com vincristina receberam um total de 5 doses de 150 µg/Kg.

Os subgrupos controle, formados por um total de 6 animais, receberam volume de salina de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência de volume. O tratamento dos subgrupos controle foi realizado com 5 doses de solução salina intravenosa, a cada dois dias.

Fármacos

Sulfato de vincristina (Tecnocris®, Eurofarma/Zodiac Produtos Farmacêuticos S/A, São Paulo-SP) na concentração de 1 mg/ml foi diluído em salina até atingir a concentração de 45 µg/ml.

Fenilefrina (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) diluída em salina na concentração de 10 mg/ml.

Sulfato de atropina (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) diluída em salina na concentração de 1mg/ml.

Tribromo etanol à 2% (Sigma Chemical Co.; St. Louis, MO, USA).

Procedimentos cirúrgicos

Os animais tratados com vincristina e salina foram anestesiados com Tribromo etanol à 2%, na dose de 10 ml/Kg i.p., e em seguida submetidos a procedimento cirúrgico de canulação da veia jugular externa esquerda e da artéria carótida direita com cânula de polietileno (PE 50), contendo heparina (500 U/ml). Estas cânulas serviram para medição da pressão venosa central e da pressão arterial média. Foram colocados também eletrodos subcutâneos nas patas dianteiras e na pata traseira esquerda, para registro do traçado eletrocardiográfico e da medição da frequência cardíaca. Uma pequena incisão possibilitou a fixação destas cânulas e dos fios de eletrodos na região dorsal do animal, mediante sutura.

Este procedimento cirúrgico foi realizado no momento da administração da quinta dose do tratamento com vincristina ou salina. Após os experimentos para estudo do barorreflexo, os animais foram sacrificados através de deslocamento cervical.

Estudo das respostas

Foi realizada a medição dos níveis de pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) através do registro contínuo, durante um período de 20 minutos com o animal tratado com vincristina ou salina em repouso e livre de estímulos sonoros.

A PAM foi registrada através de transdutores de pressão (P1000B), ligados à cânula na carótida do animal e conectados a um sistema de aquisição digital (PowerLab; AD Instruments, Austrália).

A FC foi obtida através dos eletrodos subcutâneos, ligados a um sistema de registro do traçado eletrocardiográfico (PowerLab; AD Instruments, Austrália), sendo esta mensurada através dos intervalos R-R.

A média dos valores obtidos nos últimos 5 minutos do registro foi considerada o valor basal e o barorreflexo foi avaliado através dos testes com fenilefrina e atropina.

Teste da fenilefrina

Foi administrada fenilefrina, na dose de 5 µg/Kg, diluída em um volume constante da solução de 0,1 ml, por via intravenosa, na jugular canulada previamente, sendo registrados o pico pressórico e a variação da FC reflexa. Foi registrado então o ganho, dado pela razão entre a variação da FC e a variação da PAM (Cardoso et al., 2005).

Teste da atropina

Após estabilização dos níveis pressóricos e da frequência cardíaca para obtenção de novos valores basais de PAM e FC, foi administrada atropina, na dose 0,5 mg/Kg, diluída em um volume constante da solução de 0,1 ml, por via intravenosa, na jugular canulada previamente, sendo registrada a variação da FC. Foi então avaliada como resposta, a medida da variação da FC com o bloqueio parassimpático com atropina.

Análise estatística

Estatística descritiva foi aplicada para cada subgrupo do experimento, sendo os resultados expressos como média ± erro padrão. Para comparação entre dois subgrupos foi usado o Teste “*t*” de Student-Newman-Keuls. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

Protocolo 1

Estudo do esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal em ratos acordados e submetidos a tratamento agudo com vincristina intravenosa.

A Figura 3 mostra que o tratamento agudo com vincristina com dose única de 750 µg/Kg e sacrifício do animal após 1 hora não resultou em aumento da retenção gástrica de corante. A média do percentual de retenção no estômago foi de $58,4 \pm 4,4\%$ nos ratos tratados com vincristina (N=7), enquanto nos animais controle (N=5) este percentual foi de $59,7 \pm 7,4\%$ ($P>0,05$).

O estudo do trânsito gastrointestinal de líquido, também representado na figura 1, revelou uma tendência ao aumento da retenção de corante nos segmentos proximais do intestino delgado em ratos tratados com vincristina; entretanto, não houve diferença estatística entre as médias dos percentuais de corante nas porções proximais, mediais e distais do intestino delgado entre os dois subgrupos.

No segmento intestinal proximal, os animais tratados com vincristina tiveram um percentual de retenção de $24,7 \pm 2,7\%$, enquanto o subgrupo controle foi de $21,9 \pm 1,8\%$ ($P>0,05$). No segmento intestinal medial, a retenção percentual de corante no subgrupo experimental foi de $15,1 \pm 2,7\%$ e no subgrupo controle foi de $10,0 \pm 3,5\%$ ($P>0,05$); enquanto no segmento intestinal distal, nos animais tratados com vincristina foi de $1,7 \pm 0,4\%$ e nos que receberam salina foi de $8,2 \pm 7,4\%$ ($P>0,05$).

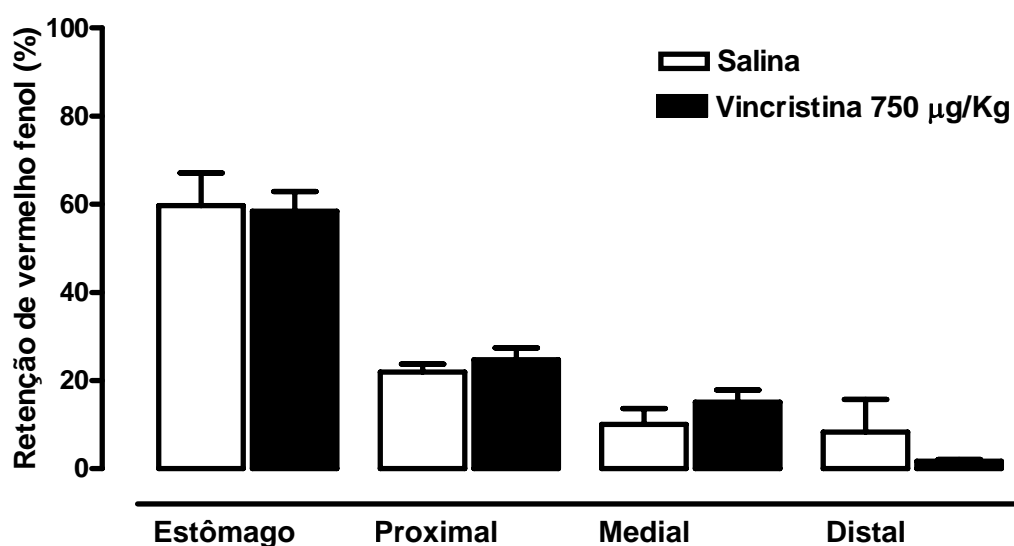


Figura 3 - Efeito do tratamento agudo com vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e dos segmentos do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento agudo com 750 µg/Kg de vincristina (N=7) ou solução salina (N=5) intravenosa. Os animais foram estudados 1 hora após a administração de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste "t" de Student-Newman-Keuls.

Protocolo 2

Estudo do esvaziamento gástrico, trânsito gastrintestinal de líquido, peso colônico, peso das fezes e latência térmica em ratos acordados e submetidos a tratamento crônico com vincristina intravenosa.

Esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido

Na Figura 4 observamos que o tratamento com 5 doses de 50 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados, resultando em uma dose cumulativa de 250 µg/Kg, causou aumento significativo na retenção de corante no estômago quando comparada com o subgrupo de animais que recebeu solução salina.

A média da retenção gástrica percentual de corante em animais do subgrupo experimental (N=5) foi de $63,9 \pm 3,0\%$ e a do subgrupo controle (N=5) foi de $43,7 \pm 6,2\%$ ($P < 0,05$).

Quanto ao estudo do trânsito gastrintestinal de líquido, a recuperação de corante vermelho fenol no intestino delgado proximal foi de $23,1 \pm 1,4\%$ em animais que receberam vincristina e de $27,1 \pm 3,4\%$ em animais controle, não havendo diferença significativa ($P > 0,05$).

A recuperação de corante no intestino delgado medial e distal mostrou-se diferente estatisticamente entre os dois subgrupos ($P < 0,05$): $12,8 \pm 3,3\%$ vs. $28,1 \pm 4,4\%$ (intestino delgado medial) e $0,0\%$ vs. $0,9 \pm 0,1\%$ (intestino delgado distal).

Nos subgrupos de animais tratados com 2 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados (doses cumulativas de 200 µg/Kg), não houve diferença significativa na recuperação de corante no estômago, quando comparada aos subgrupos de animais tratados com doses equivalentes de solução salina ($P > 0,05$).

A média da retenção percentual de corante no estômago em ratos que receberam 2 doses de 100 µg/Kg de vincristina (N=6) foi de $53,0 \pm 5,1\%$, enquanto a dos animais que receberam 2 doses de salina (N=8) foi de $48,6 \pm 1,9\%$ ($P > 0,05$). Não houve diferença também entre os percentuais de retenção no intestino delgado proximal ($30,7 \pm 2,9\%$ vs. $30,0 \pm 1,5\%$) e medial ($16,1 \pm 5,2\%$ vs. $21,3 \pm 1,8\%$) dos animais dos subgrupos experimental e controle ($P > 0,05$).

Entretanto, nos subgrupos de animais tratados com 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados (doses cumulativas de 300 a 500 µg/Kg), houve diferença significativa na recuperação de corante no estômago, quando comparada aos subgrupos de animais controle ($P<0,05$), sendo verificado um aumento progressivo da retenção gástrica de corante com o aumento no número de doses de vincristina 100 µg/Kg (Figura 5).

Dentre os animais tratados com 3 doses de 100 µg/Kg de vincristina em dias alternados (N=6), a média do percentual de retenção gástrica de vermelho fenol foi de $54,5 \pm 2,9\%$; já entre os que receberam solução salina (N=5), esta média foi de $38,1 \pm 6,6\%$ e houve diferença entre estes dois subgrupos ($P<0,05$). A recuperação de corante no intestino delgado proximal foi similar no subgrupo submetido a este esquema de tratamento com vincristina ($27,8 \pm 2,0\%$), quando comparado com o subgrupo de ratos controle ($30,2 \pm 3,3\%$) ($P>0,05$). Também não houve diferença entre a recuperação de corante no segmento medial do intestino delgado entre estes dois subgrupos ($17,6 \pm 4,4\%$ vs. $23,4 \pm 6,8\%$) ($P>0,05$). Enquanto que, conforme ilustrado na Figura 6, houve diferença na média destes percentuais entre os dois subgrupos, nos segmentos distais do intestino delgado ($0,0\%$ vs. $8,1 \pm 1,9\%$) ($P<0,05$).

Na Figura 7 está representada a retenção de corante após 4 doses de vincristina 100 µg/Kg intravenosa em dias alternados. No subgrupo experimental (N=5), a retenção gástrica foi de $57,8 \pm 1,0\%$ e no subgrupo controle (N=5) foi de $44,0 \pm 4,5\%$, com diferença significativa entre estes dois resultados ($P<0,05$). Não houve diferença, porém, na retenção no intestino delgado em segmentos proximais ($22,8 \pm 1,8\%$ vs. $20,3 \pm 2,1\%$) e mediais ($19,2 \pm 1,7\%$ vs. $24,7 \pm 2,1\%$) ($P>0,05$). Nos segmentos distais do intestino, houve diferença na retenção de corante entre estes dois subgrupos ($0,0\%$ vs. $10,8 \pm 4,3\%$) ($P<0,05$).

A retenção percentual de corante em animais tratados com 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa, em dias alternados, perfazendo uma dose cumulativa de 500 µg/Kg (N=9), diferiu da retenção em ratos controle (N=5) ($62,2 \pm 3,7\%$ vs. $43,7 \pm 6,2\%$), conforme demonstrado na Figura 8 ($P<0,05$). Quanto ao estudo do trânsito gastrintestinal de líquido, os percentuais de corante no segmento proximal de delgado ($30,0 \pm 2,3\%$ vs. $27,1 \pm 3,4\%$) não diferiram entre os dois subgrupos ($P>0,05$). Entretanto, nos segmentos medial ($7,2 \pm 2,2\%$ vs. $28,1 \pm 4,4\%$) e distal ($0,4 \pm 0,4\%$ vs. $0,9 \pm 0,1\%$) houve diferença estatística ($P<0,05$).

A Figura 9 mostra um aumento da retenção de corante no estômago após a administração de 2 e de 5 doses de vincristina 150 µg/Kg, quando comparada com o subgrupo que recebeu apenas 1 dose de 150 µg/Kg deste quimioterápico. Houve uma redução do esvaziamento gástrico após o tratamento com 2 e 5 doses de 150 µg/Kg vincristina intravenosa, em dias alternados, totalizando uma dose cumulativa de 300 µg/Kg e de 750 µg/Kg respectivamente, quando comparada ao tratamento com salina em doses equivalentes ($P < 0,05$). Este mesmo efeito não foi encontrado após a administração de 1 dose de 150 µg/Kg vincristina.

A administração de 1 dose de 150 µg/Kg vincristina intravenosa resultou em uma recuperação de corante média no estômago de $44,7 \pm 3,2\%$ (N=5), enquanto após a administração de 1 dose de salina, esta foi de $45,0 \pm 3,1\%$ (N=6). Na Figura 10 está representada a retenção gástrica e a retenção de corante no intestino delgado proximal ($35,0 \pm 1,0\%$ vs. $23,8 \pm 2,0\%$), medial ($16,5 \pm 1,8\%$ vs. $23,7 \pm 2,5\%$) e distal ($3,6 \pm 1,6\%$ vs. $7,3 \pm 1,9\%$), não havendo diferença significativa entre estas ($P > 0,05$).

Enquanto isso, o tratamento com 2 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa, em dias alternados, resultou em um percentual médio de retenção gástrica de vermelho fenol de $69,3 \pm 4,4\%$ (N=6), superior ao encontrado em animais tratados com salina (N=5) que foi de $48,6 \pm 1,9\%$ ($P < 0,05$). Quanto à retenção de corante no intestino proximal, não houve diferença entre estes dois grupos ($29,2 \pm 3,2\%$ vs. $30,0 \pm 1,5\%$), enquanto no segmento medial houve diferença com significância estatística ($1,4 \pm 1,4\%$ vs. $21,3 \pm 1,8\%$) ($P < 0,05$). Na porção distal do intestino delgado a obtenção de corante foi similar entre os dois grupos, sendo estes resultados ilustrados na Figura 11.

No subgrupo de animais tratados com a dose cumulativa máxima de 750 µg/Kg de vincristina (Figura 12), dividida em 5 doses de 150 µg/Kg e administradas em dias alternados (N=7), também houve maior recuperação do corante no estômago ($69,3 \pm 3,3\%$), enquanto que no subgrupo controle (N=5) esta foi significativamente inferior $43,7 \pm 6,2\%$ ($P < 0,05$). Não houve diferença no percentual de corante recuperado no segmento intestinal proximal ($26,8 \pm 2,5\%$ vs. $27,1 \pm 3,4\%$) e distal ($0,3 \pm 0,3\%$ vs. $0,9 \pm 0,1\%$) entre os dois subgrupos ($P > 0,05$). Entretanto, no segmento intestinal medial, a recuperação do vermelho fenol foi bem inferior nos animais tratados com vincristina ($4,1 \pm 1,3\%$), frente à encontrada no subgrupo controle ($28,1 \pm 4,4\%$) ($P < 0,05$).

Peso dos cólons

Conforme ilustrado na Figura 13, houve um aumento significativo no peso dos cólons nos animais tratados com 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina quando comparado com os animais tratados com solução salina ($4,7 \pm 0,2\text{g}$ vs. $2,6 \pm 0,4\text{g}$ e $5,0 \pm 0,5\text{g}$ vs. $2,4 \pm 0,1\text{g}$, respectivamente) ($P < 0,05$).

A figura 14 ilustra o aspecto macroscópico do cólon de ratos submetidos ao tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina ou solução salina.

Nos ratos tratados com 5 doses de 50 µg/Kg de vincristina, o peso dos cólons foi de $2,2 \pm 0,4\text{g}$, semelhante ao subgrupo controle ($2,4 \pm 0,1\text{g}$) ($P > 0,05$).

Nos animais que receberam 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg, o peso dos cólons não diferiu estatisticamente quando comparado com o dos que foram tratados com solução salina ($2,7 \pm 0,2\text{g}$ vs. $2,6 \pm 0,4\text{g}$; $2,9 \pm 0,1\text{g}$ vs. $3,8 \pm 0,4\text{g}$; $2,8 \pm 0,2\text{g}$ vs. $4,4 \pm 0,3\text{g}$; $3,2 \pm 0,1\text{g}$ vs. $2,4 \pm 0,1\text{g}$, respectivamente) ($P > 0,05$).

Peso das fezes

A Figura 15 mostra o peso diário das fezes durante o tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina. Não houve diferença estatística entre o peso das fezes 24 horas antes da primeira dose $2,1 \pm 0,2\text{g}$ e 48 horas após a quinta dose $0,5 \pm 0,3\text{g}$ ($P > 0,05$), apesar de haver uma tendência evidente de diminuição no peso destas. Quatro dias após a última dose de 150 µg/Kg, o débito fecal, medido através do peso fecal ($4,6 \pm 1,6\text{g}$), tende a ser maior, porém também sem diferença estatística, quando comparado com o peso no segundo dia após a última dose ($P > 0,05$).

Latência térmica

O tempo de latência ao calor no subgrupo de animais que receberam 5 doses de 50 µg/Kg de vincristina, antes do tratamento foi $12,2 \pm 1,2\text{ s}$ (N=5). Houve uma redução progressiva, com significância estatística quando comparada aos resultados basais, no tempo de latência 24 horas após a primeira dose $6,7 \pm 1,3\text{ s}$ e 24 horas após a quinta dose $5,7 \pm 0,6\text{ s}$ ($P < 0,05$). A latência térmica medida 24 horas após a terceira dose de 50 µg/Kg foi de $10,6 \pm 2,3\text{ s}$, não diferindo significativamente da

latência basal ($P>0,05$), apesar de os resultados mostrarem uma tendência à redução.

No subgrupo de animais tratados com 5 doses de 100 $\mu\text{g/Kg}$ de vincristina, a latência térmica basal encontrada foi mensurada em cinco animais, sendo esta de $10,6 \pm 1,1$ s. Houve redução significativa desta 24 horas após a primeira ($5,3 \pm 0,9$ s), terceira ($6,1 \pm 0,7$ s) e quinta dose ($4,4 \pm 0,5$ s), quando comparada com a latência térmica basal ($P<0,05$).

Dentre os ratos que receberam 5 doses de 150 $\mu\text{g/Kg}$, o tempo de latência antes do tratamento foi de $12,7 \pm 1,2$ s ($N=6$). A diminuição da latência térmica também ocorreu 24 horas após a primeira dose de neste subgrupo ($9,7 \pm 0,6$ s) ($P<0,05$), e persistiu após a terceira ($5,9 \pm 0,3$ s) e após a quinta dose ($8,1 \pm 1,1$ s) em relação à latência pré-tratamento com vincristina ($P<0,05$). Um animal deste subgrupo foi excluído por apresentar tempo de latência basal superior a 20 s. Estes resultados estão ilustrados na Figura 16.

Toxicidade do protocolo

Na avaliação da toxicidade do protocolo, foi verificado inicialmente que o peso dos animais do subgrupo controle ($218,6 \pm 2,7$ g) e dos animais tratados com 5 doses de 50 $\mu\text{g/Kg}$ ($216,8 \pm 11,1$ g), 100 $\mu\text{g/Kg}$ ($211,0 \pm 3,8$ g) e 150 $\mu\text{g/Kg}$ ($215,4 \pm 4,9$ g), não apresentavam diferença estatística ($P>0,05$).

Durante a avaliação diária do peso corpóreo, no grupo de animais que recebeu 5 doses de 50 $\mu\text{g/Kg}$ não houve perda de peso com significância estatística após a primeira ($221,0 \pm 11,4$ g) e terceira dose ($221,8 \pm 11,8$ g) de vincristina ($P>0,05$). Entretanto, o peso dos animais após a quinta dose ($207,6 \pm 12,3$ g) foi significativamente menor que o peso basal pré-tratamento ($216,8 \pm 11,1$ g) ($P<0,05$).

Dentre o animais tratados com 5 doses de 100 $\mu\text{g/Kg}$, não houve redução significativa do peso após primeira ($211,2 \pm 3,5$ g) e terceira dose ($207,2 \pm 2,7$ g) ($P>0,05$), acontecendo perda de peso significativa após a quinta dose ($194,6 \pm 4,1$ g) quando comparado com o peso basal ($211,0 \pm 3,8$ g) ($P<0,05$).

Nos ratos tratados com 5 doses de 150 $\mu\text{g/Kg}$, houve perda de peso significativa após a terceira ($199,2 \pm 6,1$ g) e quinta ($175,4 \pm 7,1$ g) dose de vincristina ($P<0,05$), não havendo diferença estatística entre o peso basal ($215,4 \pm 4,9$ g) e após a primeira dose ($210,4 \pm 5,1$ g) ($P>0,05$).

No subgrupo de animais controle, foi identificado ganho progressivo de peso após a terceira ($227,8 \pm 3,0$ g) e quinta ($238,0 \pm 3,9$ g) dose de solução salina, quando comparado ao peso dos ratos antes do tratamento ($218,6 \pm 2,7$ g) ($P < 0,05$). O peso dos animais após a primeira dose de solução salina ($216,6 \pm 2,6$ g) não diferiu estatisticamente do peso pré-tratamento ($P > 0,05$).

No momento do sacrifício para o estudo do esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido, o peso dos animais tratados com 5 doses de $100 \mu\text{g/Kg}$ ($194,6 \pm 4,1$ g) e $150 \mu\text{g/kg}$ ($175,4 \pm 7,1$ g) de vincristina eram estatisticamente inferiores ao peso do subgrupo controle ($238,0 \pm 3,9$ g) ($P < 0,05$). Entretanto nos animais do subgrupo tratado com 5 doses de $50 \mu\text{g/Kg}$, não houve diferença estatística do peso corpóreo quando comparado com o subgrupo controle ($207,6 \pm 12,3$ g vs. $238,0 \pm 3,9$ g) ($P > 0,05$). Estes resultados estão ilustrados na Figura 17.

Quanto a outros parâmetros associados à toxicidade, foi verificada a incidência de diarreia transitória (Figura 18A) em dois ratos tratados com 5 doses de $150 \mu\text{g/Kg}$ ($N=7$) e piloereção (Figura 18B) em três animais deste mesmo subgrupo. Não houve diarreia ou piloereção no subgrupo de ratos tratados com solução salina.

Marcha neuropática tipo *Toe-walking gait* (GOTTSCHALK *et al.*, 1968) foi identificada em 5 animais tratados com 5 doses de vincristina $150 \mu\text{g/Kg}$ ($N=7$), não havendo nenhum caso no subgrupo controle. A marcha está ilustrada na Figura 18C.

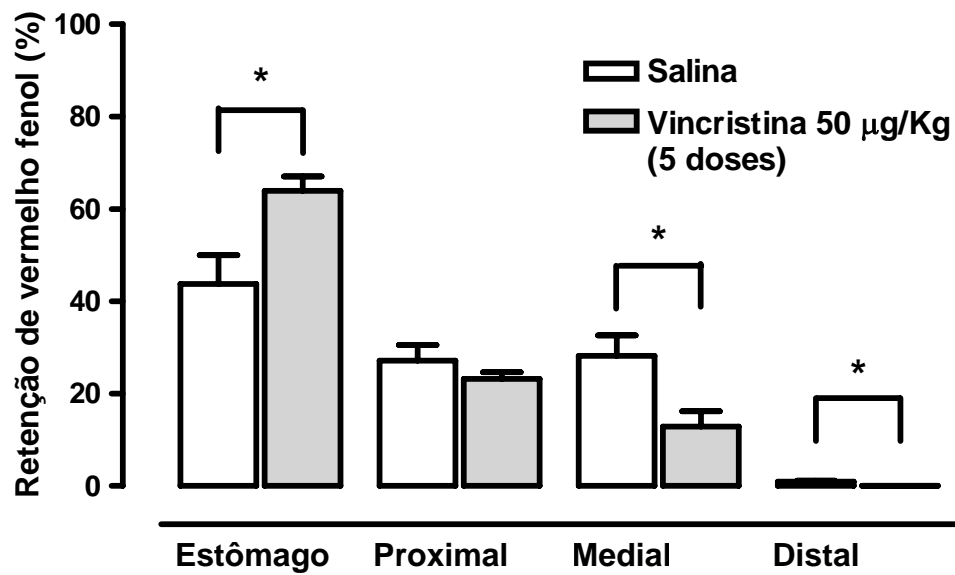


Figura 4 - O tratamento crônico com 5 doses de 50 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido

Nota: Retenção gástrica e dos segmentos do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 50 µg/Kg de vincristina (N=5) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrintestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.



Figura 5 - O tratamento crônico com 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa inibe o esvaziamento gástrico em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica em ratos acordados submetidos ao tratamento com 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina (N=6, 6, 5 e 11) ou solução salina (N=8, 5, 5 e 5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

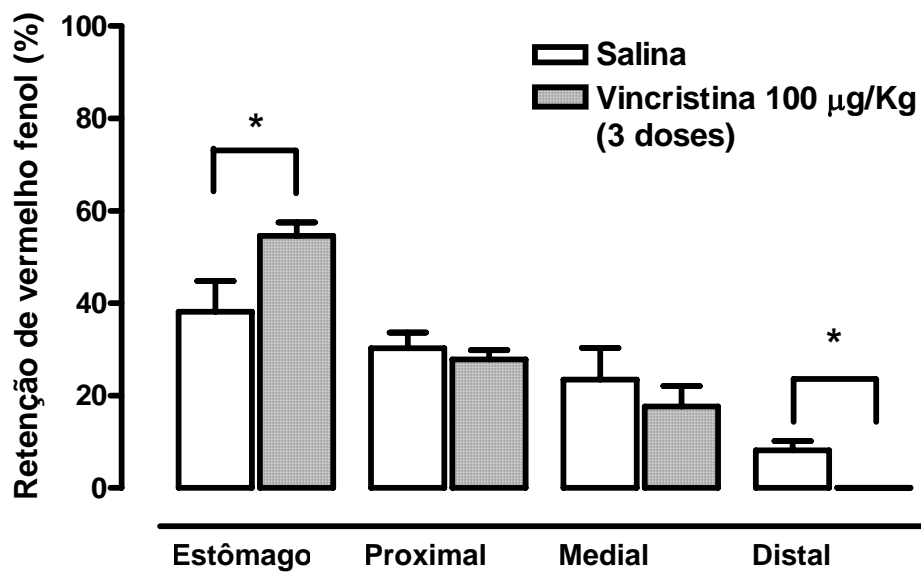


Figura 6 - O tratamento crônico com 3 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 3 doses de 100 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste “t” de Student-Newman-Keuls.

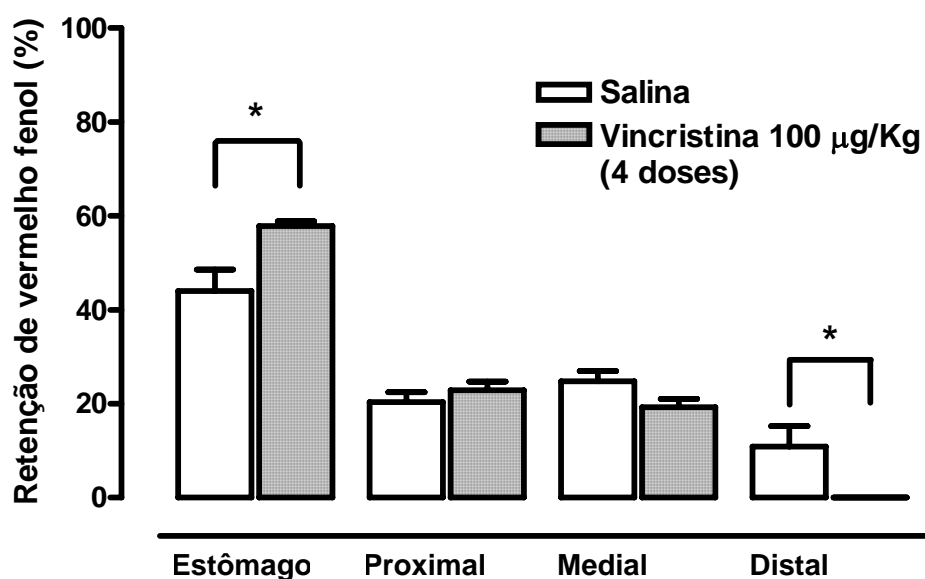


Figura 7 - O tratamento crônico com 4 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 4 doses de 100 µg/Kg de vincristina (N=5) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. subgrupo controle (salina) ao Teste "t" de Student-Newman-Keuls.

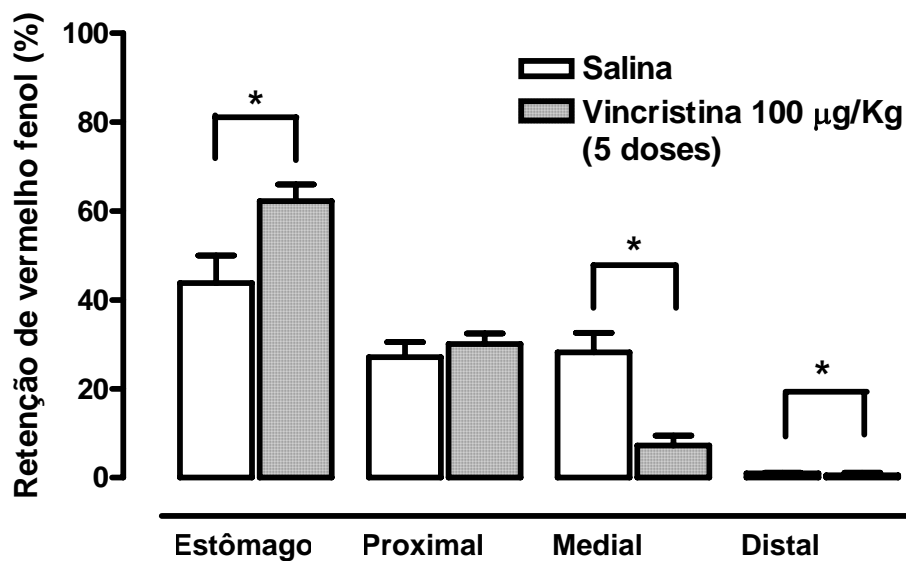


Figura 8 - O tratamento crônico com 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina (N=11) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

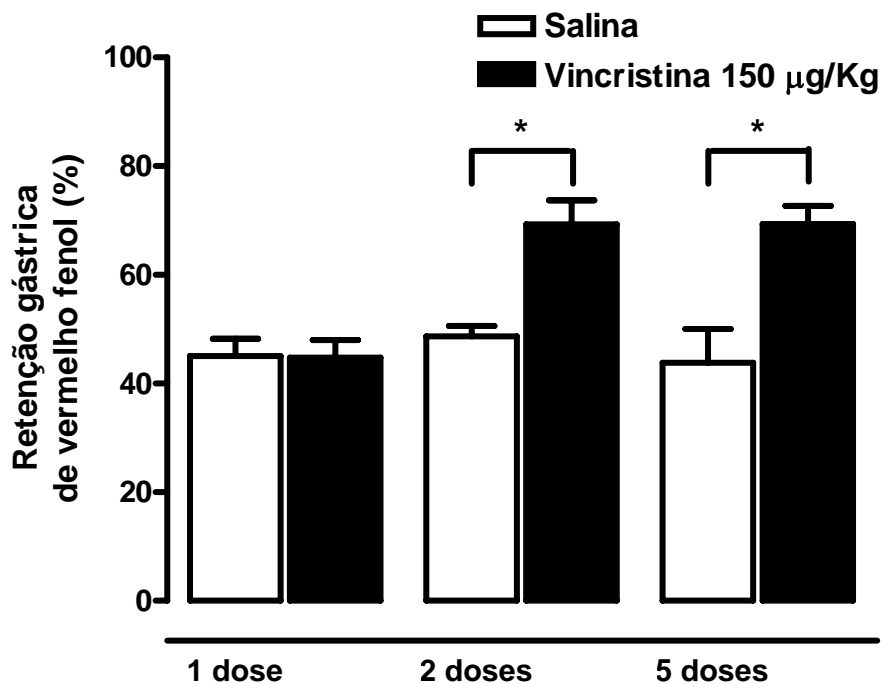


Figura 9 - Efeito do tratamento crônico com 1, 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa sobre o esvaziamento gástrico em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica em ratos acordados submetidos ao tratamento com 1, 2, e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=5, 6 e 7) ou solução salina (N=6, 8 e 5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrintestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

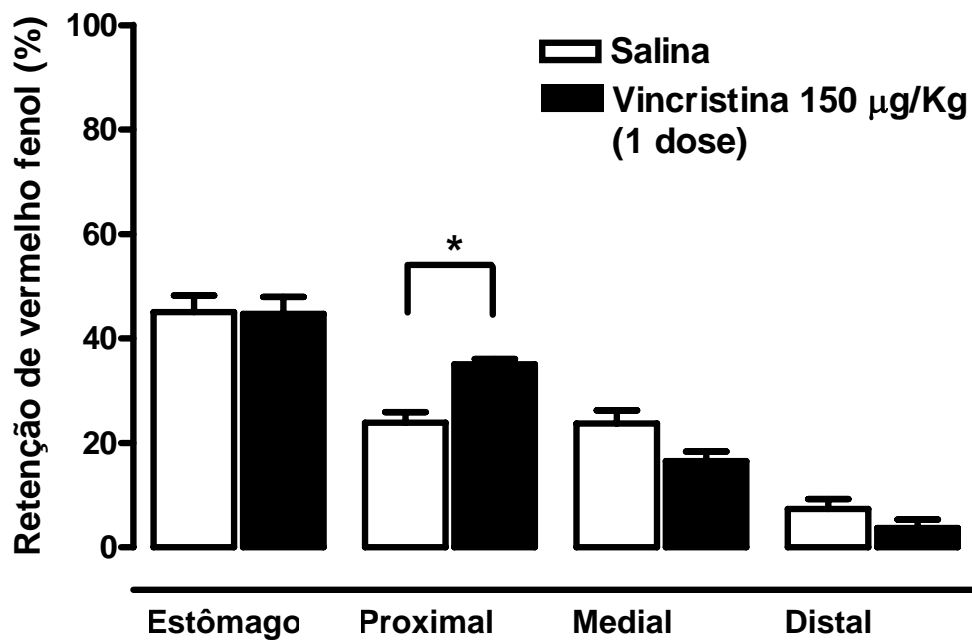


Figura 10 - O tratamento crônico com 1 dose de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa inibe o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 1 dose de 150 µg/Kg de vincristina (N=5) ou solução salina (N=6) intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. subgrupo controle (salina) ao Teste “*t*” de Student-Newman-Keuls.

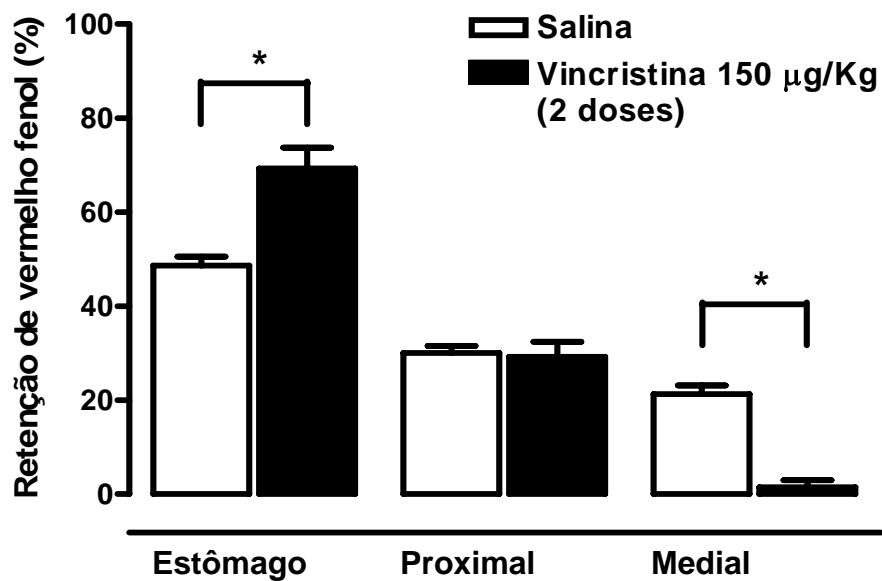


Figura 11 - O tratamento crônico com 2 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal e medial) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 2 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=8) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

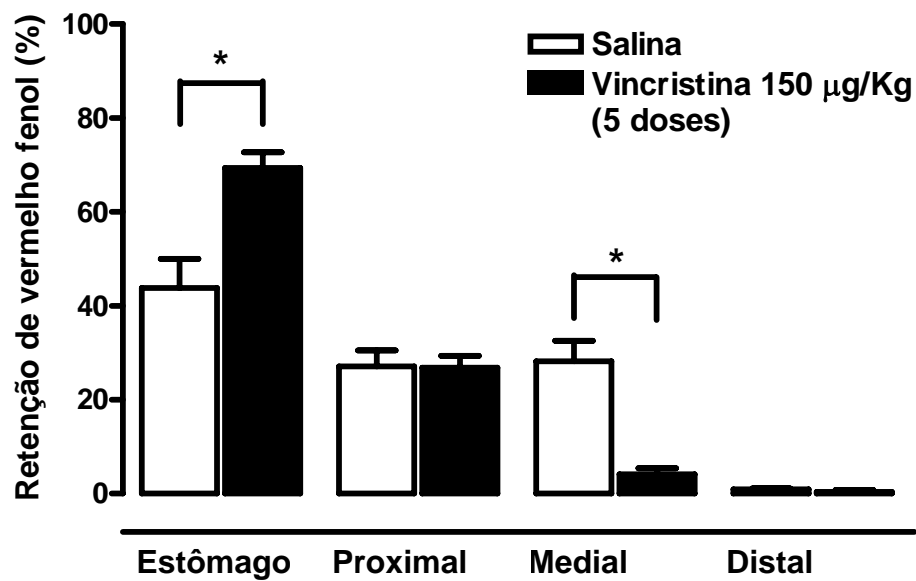


Figura 12 - O tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=7) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

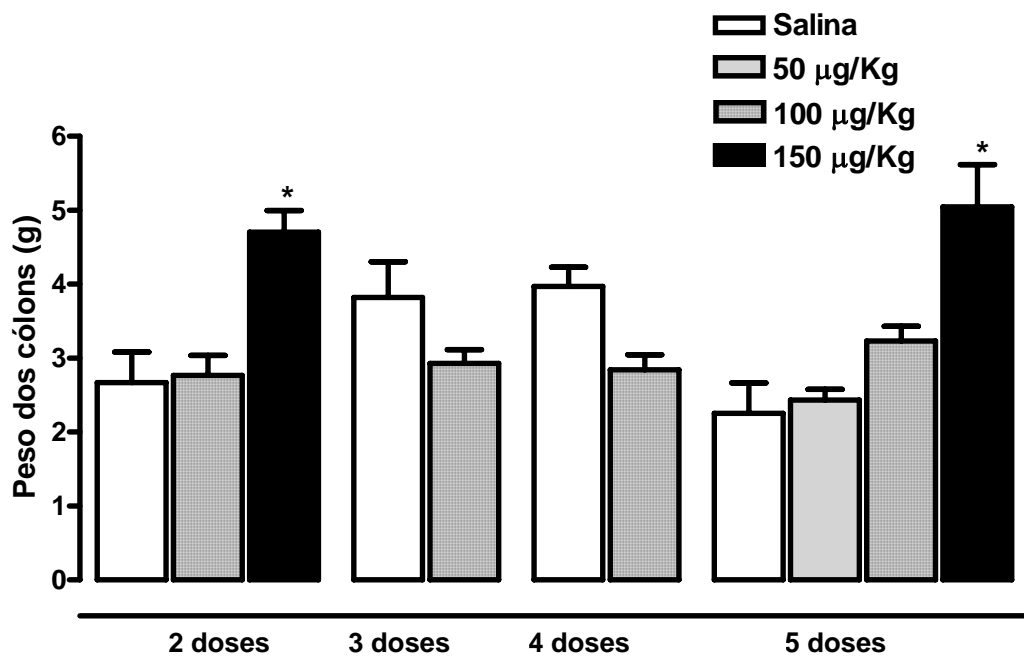


Figura 13 - Efeito do tratamento crônico com 5 doses de 50 µg/Kg; 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg; e 1, 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados sobre o peso dos cólons

Nota: Peso do cólon em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 50 µg/Kg (N=5); 2, 3, 4 e 5 doses de 100 µg/Kg (N=6, 6, 5 e 11); e 1, 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=5, 6 e 5) ou solução salina (N=6, 5, 8, 5 e 5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As barras representam a média dos valores do peso dos cólons e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.



Figura 14 - Efeito do tratamento crônico com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de vincristina intravenosa em dias alternados sobre os cólons de ratos acordados

Nota: Aspecto macroscópico do cólon de ratos submetidos ao tratamento crônico com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de vincristina ou salina (SHAM).

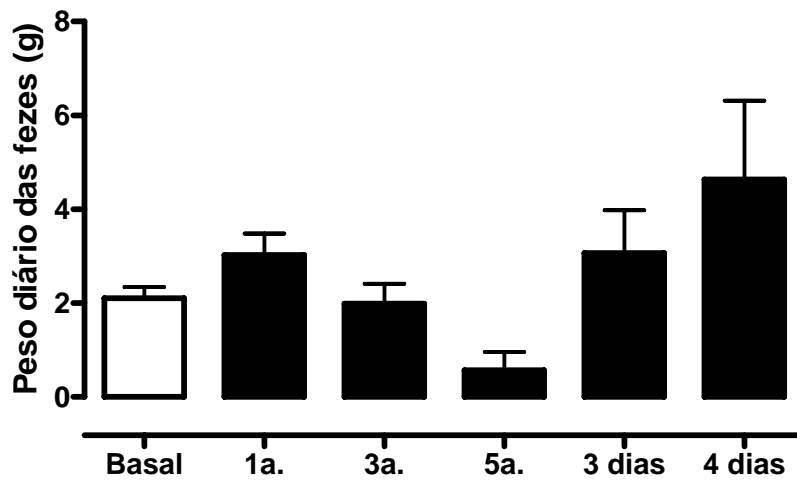


Figura 15 - Efeito do tratamento crônico com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de vincristina intravenosa em dias alternados sobre o peso diário das fezes

Nota: Peso diário das fezes em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de vincristina (N=4) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados antes do tratamento (basal), 24 horas após a primeira, terceira, quinta dose, três e quatro dias após a quinta dose de vincristina. As barras representam as médias dos pesos das fezes e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. pré-tratamento (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

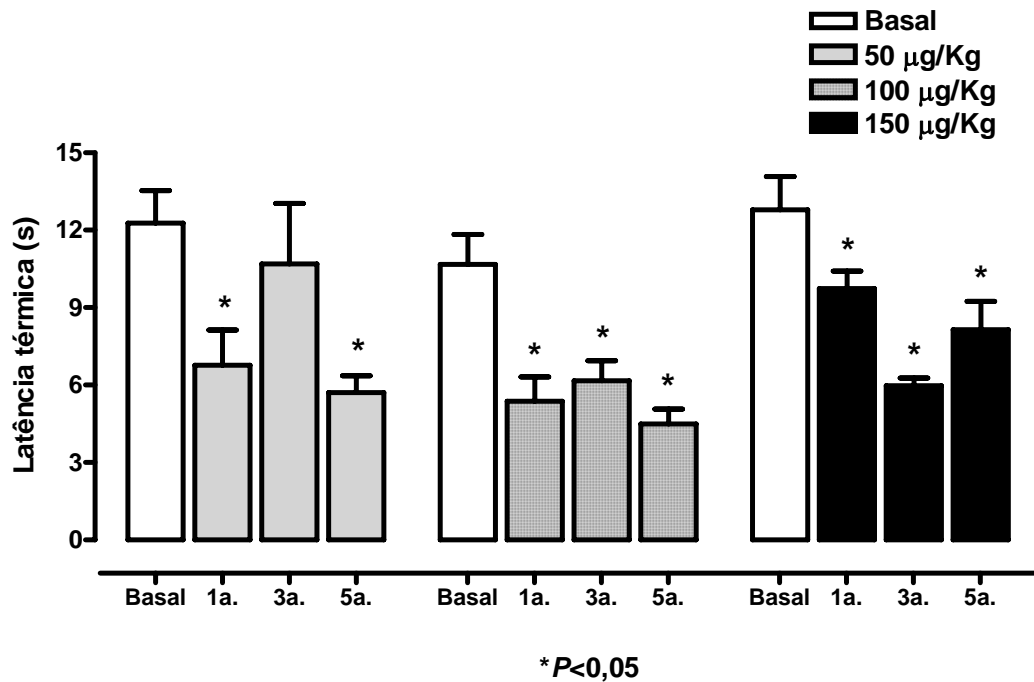


Figura 16 - Diminuição do tempo de latência térmica avaliada 24 horas após a 1^a, 3^a e 5^a dose de 50 µg/Kg, 100 µg/Kg e 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em ratos acordados

Nota: Latência térmica medida através do teste da placa quente ($51 \pm 0,5^\circ\text{C}$) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 50 µg/Kg (N=5), 5 doses de 100 µg/Kg (N=5) 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados antes do tratamento (basal), 24 horas após a primeira, terceira e quinta dose de vincristina. As barras representam as médias dos valores do tempo de latência térmica e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. pré-tratamento (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

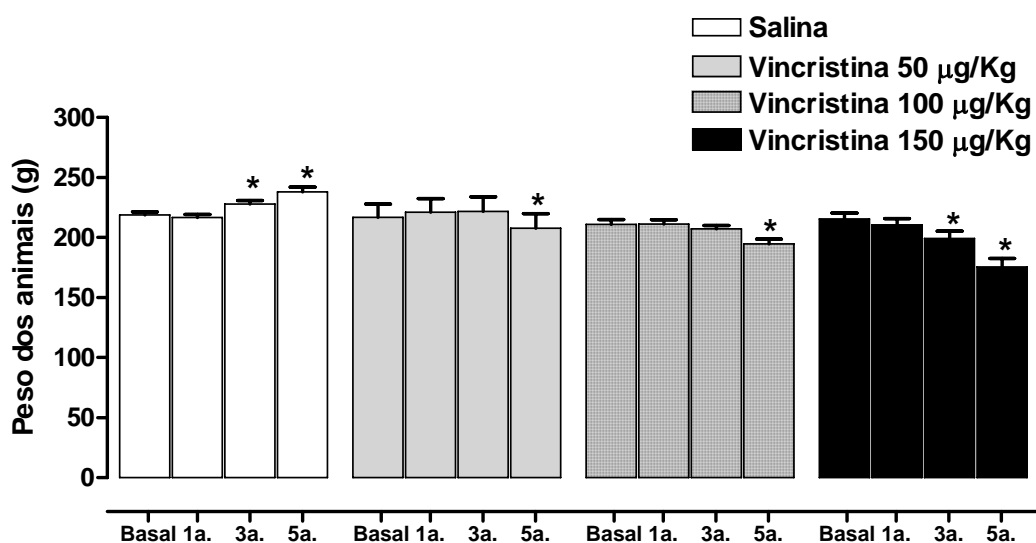


Figura 17 - Peso corporal em ratos avaliados 24 horas após a 1^a, 3^a e 5^a dose de 50 µg/Kg, 100 µg/Kg e 150 µg/Kg de vincristina ou salina intravenosa em ratos acordados

Nota: Peso corporal em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 50 µg/Kg (N=5), 5 doses de 100 µg/Kg (N=9), 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=7) ou de solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados antes do tratamento (basal), 24 horas após a primeira, terceira e quinta dose de vincristina. As barras representam as médias dos pesos corpóreo dos animais e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. pré-tratamento (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

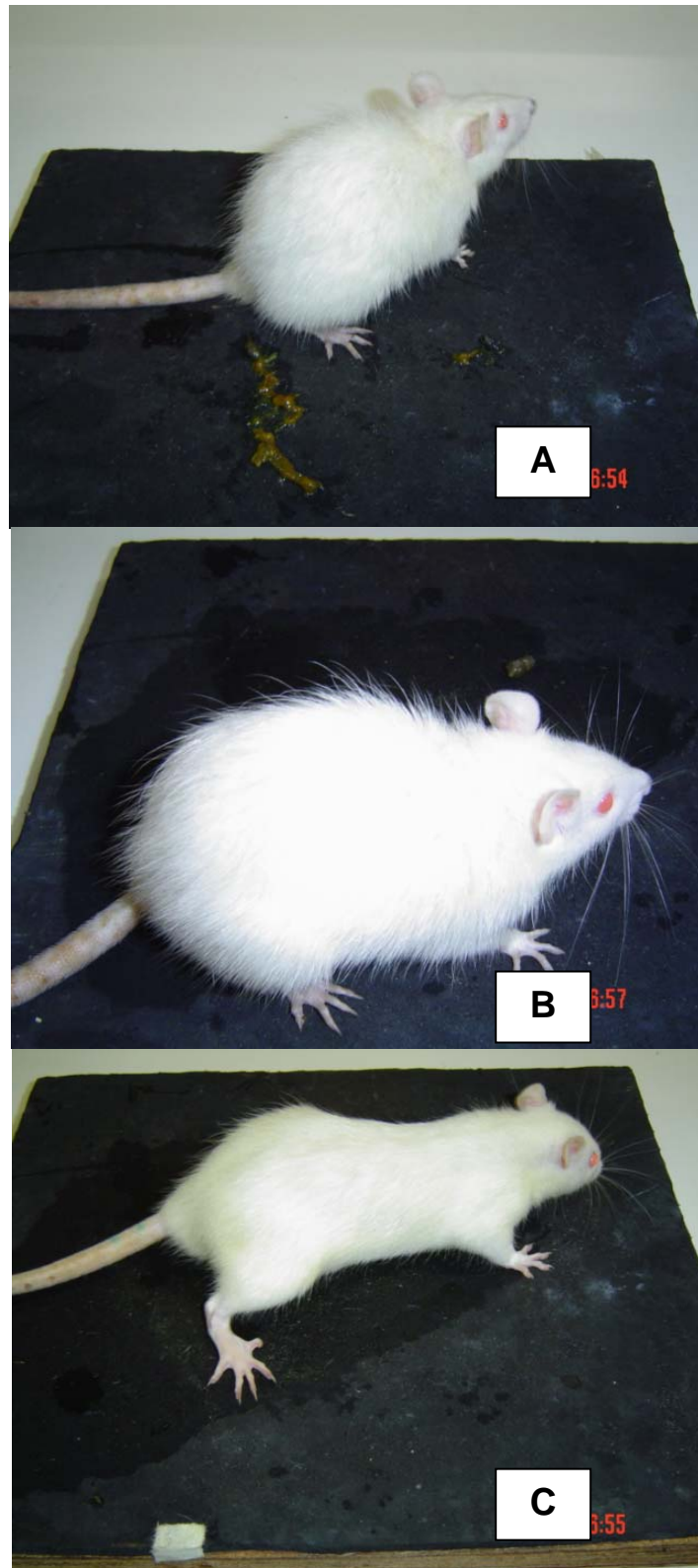


Figura 18 - Diarréia (A), pilo-ereção (B) e marcha neuropática tipo *toe-walking gait* (C) em ratos acordados tratados com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de vincristina intravenosa

Protocolo 3

Estudo do esvaziamento gástrico, trânsito gastrintestinal de líquido, peso dos cólons e latência térmica em ratos acordados após uma e duas semanas de tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa (efeito residual).

Esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido

A avaliação da motilidade gastrintestinal, através da medição da retenção gástrica de corante e do trânsito gastrintestinal de líquido em ratos tratados com 5 doses de vincristina intravenosa e sacrificados após uma semana foi realizada em 5 animais. Conforme ilustrado na Figura 19A, foi evidenciada uma reversão na retenção de corante no estômago ($60,5 \pm 3,6\%$) quando comparada com a do grupo controle ($43,7 \pm 6,2\%$) ($P > 0,05$). Nos segmentos intestinais proximais e mediais, a recuperação encontrada foi de $27,8 \pm 2,0\%$, $11,6 \pm 3,4\%$, respectivamente e não diferiu do controle.

Nos subgrupo de animais tratados com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina e sacrificados após duas semanas ($N=7$), a retenção de corante no estômago também foi semelhante a do grupo controle ($55,9 \pm 4,0\%$ vs. $43,7 \pm 6,2\%$) ($P > 0,05$). Nos segmentos intestinais proximais e mediais, a recuperação encontrada foi de $33,4 \pm 4,5\%$ e $10,6 \pm 1,1\%$, respectivamente, sendo semelhante ao subgrupo controle.

Peso dos cólons

No subgrupo de animais sacrificados após uma semana, os pesos dos cólons persistiram elevados ($4,1 \pm 0,3$ g) quando comparados com os encontrados no subgrupo controle ($2,4 \pm 0,1$ g) ($P < 0,05$). Entretanto, como ilustrado na Figura 19B, houve reversão do aumento do peso colônico duas semanas após a última dose do tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina ($3,4 \pm 0,4$ g).

Latência térmica

Quanto à avaliação da sensibilidade térmica dolorosa no teste da placa quente (Figura 19C), houve persistência da redução no tempo de latência térmica mesmo uma semana após ($6,8 \pm 1,0$ s) e duas semanas após ($4,8 \pm 0,4$ s) a quinta dose de vincristina, quando comparado com a resposta pré-tratamento ($12,7 \pm 1,2$ s) ($P < 0,05$).

Toxicidade do protocolo

A avaliação do peso corporal medido diariamente revelou que a perda ponderal nos animais tratados com 5 doses de vincristina intravenosa persistiu após uma semana ($215,4 \pm 4,966$ g vs. $194,2 \pm 9,4$ g) ($P < 0,05$), porém foi revertida duas semanas após a última dose ($215,4 \pm 4,9$ g vs. $208,1 \pm 11,5$ g) ($P > 0,05$). Estes resultados estão ilustrados na Figura 20.

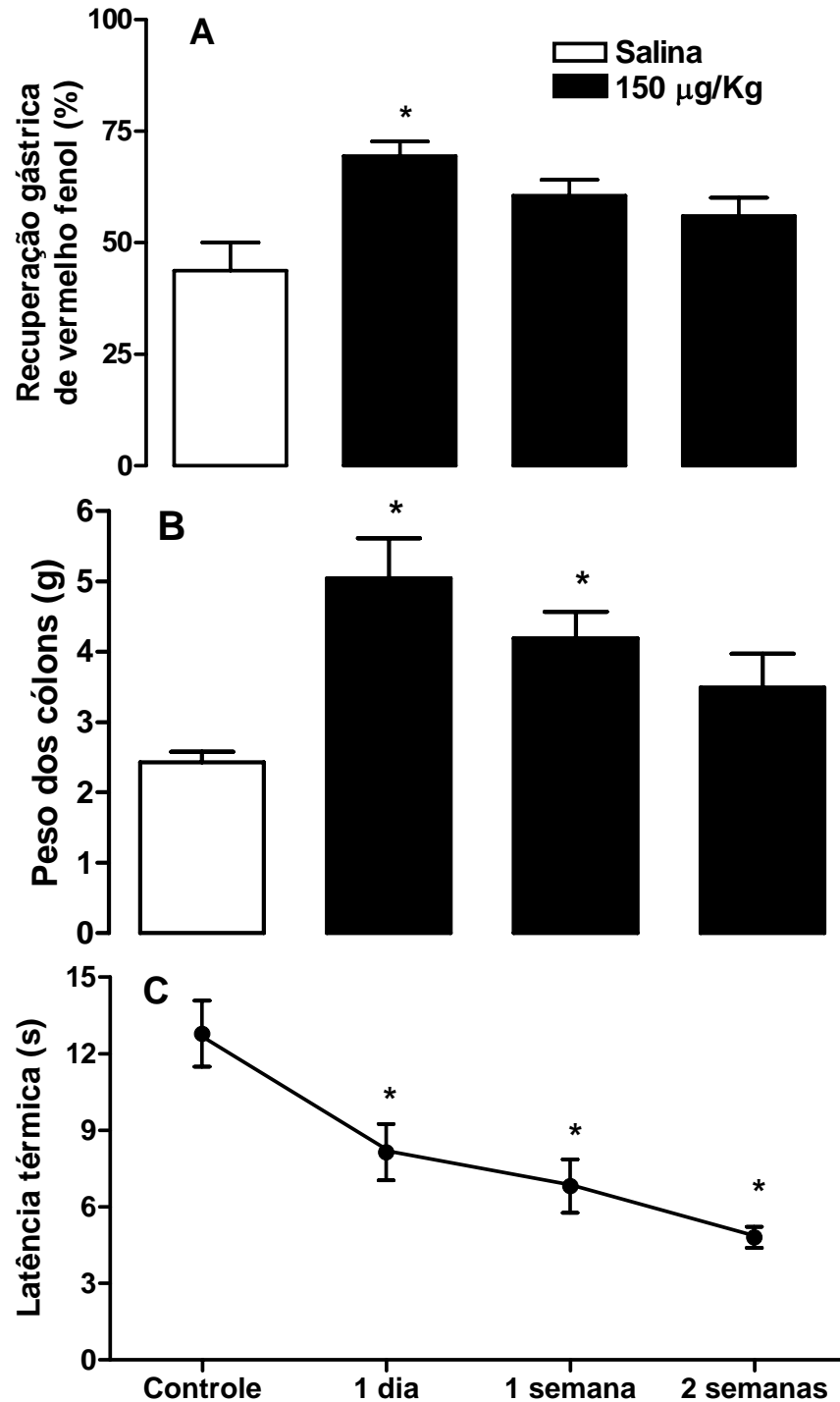


Figura 19 – Correlação entre a inibição do esvaziamento gástrico, aumento do peso dos cólons e diminuição do tempo de latência térmica em ratos acordados, sacrificados um dia, uma e duas semanas após o tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados * $P < 0,05$ vs. controle (ou basal)

A. Retenção gástrica em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=19) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais tratados com vincristina foram estudados um dia (N=7), uma semana (N=5) e duas semanas (N=7) após a última dose de vincristina e os tratados com salina foram estudados um dia após a última dose. O estudo foi realizado 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante do estômago e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

B. Peso do cólon em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=17) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados um dia (N=5), uma semana (N=5) e duas semanas (N=7) após a última dose de vincristina ou um dia após última dose de salina. As barras representam a média dos valores do peso dos cólons e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Bonferroni.

C. Latência térmica mensurada através do teste da placa quente ($51\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados antes do tratamento (basal), um dia, uma semana e duas semanas após a última dose de vincristina. As barras representam as médias dos valores do tempo de latência térmica e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. pré-tratamento (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

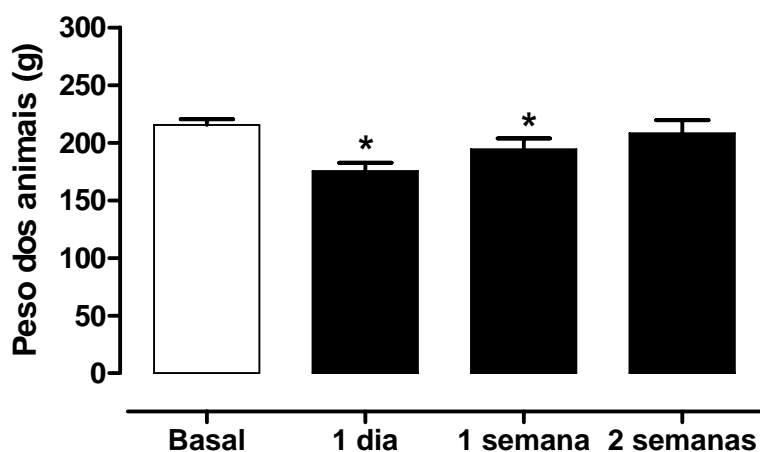


Figura 20 - Reversão da perda de peso corporal em ratos acordados um dia, uma e duas semanas após a última dose do tratamento crônico com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados

Nota: Peso corporal em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=7) intravenosa em dias alternados. Os animais foram estudados antes do tratamento (basal), um dia, uma semana e duas semanas após a última dose de vincristina. As barras representam as médias dos pesos corpóreo dos animais e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. pré-tratamento (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

Protocolo 4

Estudo da depleção da função do sistema nervoso simpático com guanetidina sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados após tratamento crônico com vincristina intravenosa.

Conforme pode ser observado na Figura 21, houve diferença estatística entre a retenção gástrica de corante em ratos tratados com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina e submetidos ao bloqueio simpático com guanetidina 10 mg/Kg intraperitoneal ($71,7 \pm 10,1\%$), quando comparada com a retenção em animais tratados com salina + guanetidina ($41,1 \pm 4,5\%$) ($P < 0,05$). Não houve diferença entre os segmentos intestinais proximais ($21,8 \pm 9,6\%$ vs. $33,8 \pm 5,1\%$), mediais ($5,2 \pm 2,4\%$ vs. $22,4 \pm 7,6\%$) e distais ($1,1 \pm 0,8\%$ vs. $2,5 \pm 0,2\%$) ($P > 0,05$).

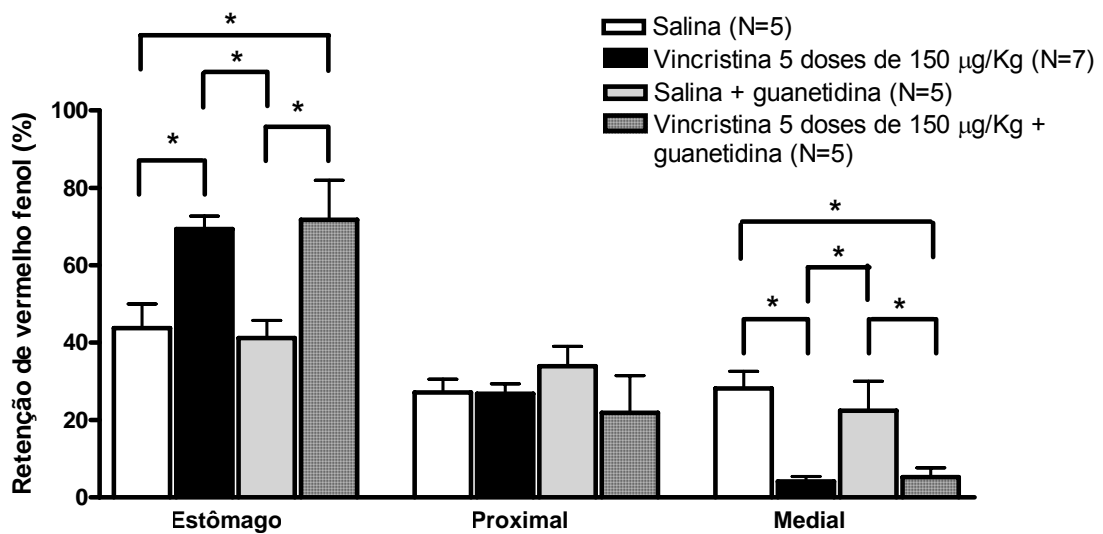


Figura 21 - Efeito da depleção da função do sistema nervoso simpático com guanetidina sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados, tratados com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina ou solução salina intravenosa em dias alternados

Nota: Retenção gástrica e do intestino delgado (proximal, medial e distal) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=12) ou solução salina (N=10) intravenosa em dias alternados e bloqueio (ou não bloqueio) simpático com guanetidina 10 mg/kg intraperitoneal. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina, 1 hora após o bloqueio simpático com guanetidina e 10 minutos após a administração, mediante gavagem, da refeição-teste (1,5 mL de 0,5 mg/mL de vermelho fenol em solução de glicose a 5%). As barras representam a média dos valores de retenção do corante de cada segmento do trato gastrointestinal e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupos controles (salina e salina+guanetidina) ao Teste One-Way ANOVA e Teste de Fisher.

Protocolo 5

Estudo da resposta ao desafio pela administração de fenilefrina e atropina em ratos acordados submetidos ou não ao tratamento crônico com vincristina intravenosa (Estudo dos barorreflexos).

Parâmetros cardiovasculares (pré-tratamento com fenilefrina)

Na avaliação dos parâmetros hemodinâmicos após o tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina ou solução salina, foi verificado que os níveis basais da PAM dos animais experimentais (N=6) não apresentavam diferença estatística quando comparados com os animais controles (N=5) ($128,9 \pm 7,2$ mmHg vs. $112,9 \pm 12,4$ mmHg) ($P>0,05$). Também não houve diferença na FC basal entre o subgrupo de animais que recebeu vincristina ($335,3 \pm 15,4$ b.p.m.) e o subgrupo de animais controle ($333,9 \pm 17,2$ b.p.m.) ($P>0,05$).

Tratamento com fenilefrina

Após a administração do agonista α_1 -adrenérgico fenilefrina (5 µg/Kg intravenosa), houve um aumento significativo nos níveis da PAM no grupo tratado com vincristina ($128,9 \pm 7,2$ mmHg vs. $161,3 \pm 4,2$ mmHg) ($P<0,05$), assim como também no grupo controle ($112,9 \pm 12,4$ mmHg vs. $154,3 \pm 4,0$ mmHg) ($P<0,05$). Estes resultados estão ilustrados na Figura 22B.

Quanto à variação da PAM nestes dois subgrupos, após o estímulo adrenérgico com fenilefrina, houve semelhança estatística nos ratos tratados com vincristina ($32,3 \pm 5,8$ mmHg) e nos tratados com salina ($41,4 \pm 11,4$ mmHg) ($P>0,05$).

Estudo do baroreflexo (após fenilefrina)

Conforme ilustrado na Figura 22A, a resposta autonômica caracterizada pela redução da FC induzida pelo agonista α_1 -adrenérgico com fenilefrina 5 µg/kg intravenosa foi identificada no subgrupo tratado com vincristina ($335,3 \pm 15,4$ b.p.m.

vs. $262,7 \pm 14,4$ b.p.m.) e no subgrupo controle ($333,9 \pm 17,2$ vs. $306,1 \pm 12,3$ b.p.m.) ($P < 0,05$).

Entretanto, a redução média da FC nos animais experimentais foi de $72,5 \pm 14,2$ b.p.m., superior à encontrada no subgrupo de ratos tratados com salina, que foi da ordem de $27,7 \pm 9,6$ b.p.m. ($P < 0,05$). Este resultado está ilustrado na Figura 23.

O ganho (Figura 24), calculado como a razão entre a variação da FC e a variação da PAM após estímulo com α_1 -adrenérgico, foi superior nos animais submetidos ao tratamento com vincristina ($-2,3 \pm 0,4$ b.p.m./mmHg), quando comparado com os animais controle (mediana: $-0,7 \pm 0,3$ b.p.m./mmHg) ($P < 0,05$).

Parâmetros cardiovasculares (pré-tratamento com atropina)

Os níveis da PAM e a FC basal, antes dos testes com atropina, eram semelhantes no subgrupo de animais tratados com 5 doses de $150 \mu\text{g/Kg}$ de vincristina ($N=7$) ou salina ($N=6$) ($129,1 \pm 6,0$ mmHg vs. $113,1 \pm 9,8$ mmHg e $353,2 \pm 15,0$ b.p.m. vs. $322,1 \pm 21,6$ b.p.m., respectivamente) ($P > 0,05$).

Tratamento com atropina

A comparação entre os níveis da PAM antes e após o tratamento com atropina $0,5 \text{ mg/Kg}$ intravenosa, ilustrada na Figura 25B, não revelou diferença significativa no subgrupo de animais experimentais ($129,1 \pm 6,0$ mmHg vs. $126,9 \pm 7,9$ mmHg) ou no subgrupo controle ($113,1 \pm 9,8$ mmHg vs. $105,4 \pm 12,7$ mmHg) ($P > 0,05$).

Quanto à variação da PAM mensurada antes e após o bloqueio parassimpático com atropina, houve uma tendência à redução nos níveis destas em ambos os subgrupos de animais. Entretanto, não houve diferença estatística entre a variação da PAM nos animais tratados com vincristina ($-2,1 \pm 2,7$ mmHg) e nos que receberam salina ($-3,1 \pm 5,3$ mmHg) ($P > 0,05$).

Estudo do baroreflexo (após atropina)

O bloqueio parassimpático com atropina $0,5 \text{ mg/Kg}$ resultou em um aumento significativo na FC basal em animais tratados com vincristina ($353,2 \pm 15,0$ b.p.m. vs.

466,4 ± 16,4 b.p.m.) e em animais tratados com salina (322,1 ± 21,6 b.p.m. vs. 372,8 ± 29,0 b.p.m.) (P<0,05). Estes resultados estão ilustrados na Figura 25A.

Entretanto, conforme ilustrado na Figura 26, a variação da FC após o tratamento com atropina foi significativamente superior nos animais do subgrupo experimental (113,2 ± 19,6 b.p.m.) quando comparada à do subgrupo controle (44,1 ± 17,8 b.p.m.) (P<0,05).

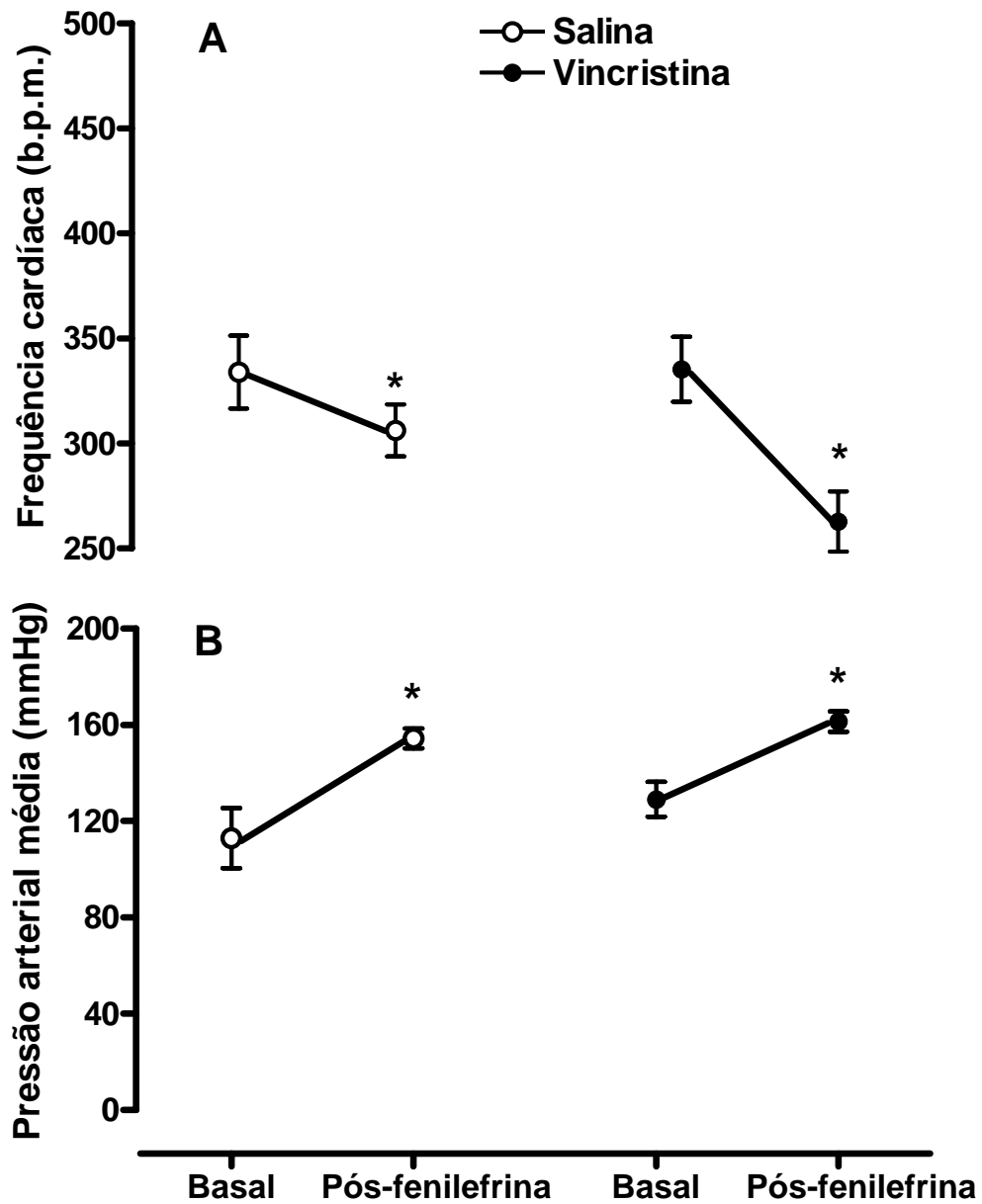


Figura 22 - Aumento da pressão arterial média e redução da frequência cardíaca após a administração intravenosa de fenilefrina 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ou salina em dias alternados

A. Frequência cardíaca em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados e com agonista α_1 -adrenérgico fenilefrina 5 µg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As frequências cardíacas foram medidas antes (basal) e após o estímulo simpático máximo induzido pela fenilefrina. Os símbolos representam as médias das frequências cardíacas e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. pré-estímulo simpático (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

B. Pressão arterial média em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados e com agonista α_1 -adrenérgico fenilefrina 5 µg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As pressões arteriais médias foram mensuradas antes (basal) e após o estímulo simpático máximo induzido pela fenilefrina. Os símbolos representam as médias das pressões e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. pré-estímulo simpático (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

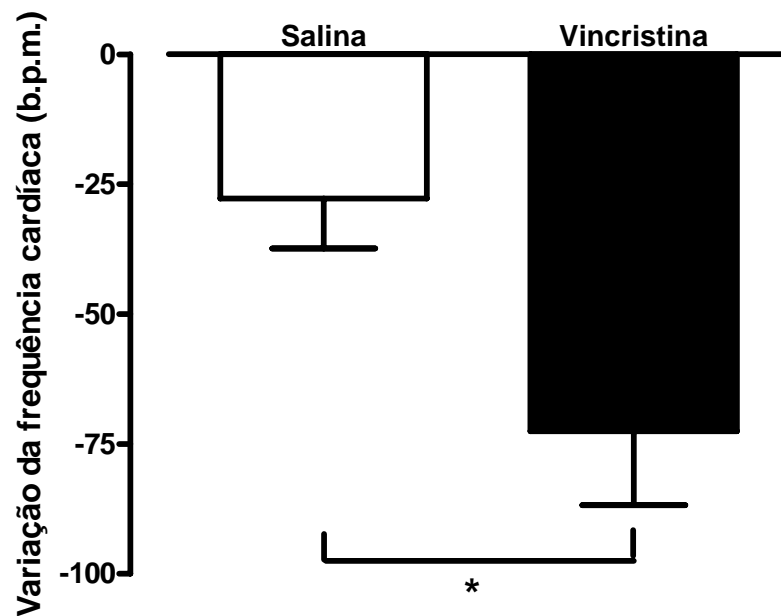


Figura 23 - Variação da frequência cardíaca após a administração intravenosa de fenilefrina 5 µg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados

Nota: Variação da frequência cardíaca em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados e com agonista α_1 -adrenérgico fenilefrina 5 µg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As frequências cardíacas foram medidas antes (basal) e após o estímulo simpático máximo induzido pela fenilefrina. As barras representam as médias das variações da frequência cardíaca e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. subgrupo controle (salina) ao Teste "t" de Student-Newman-Keuls.

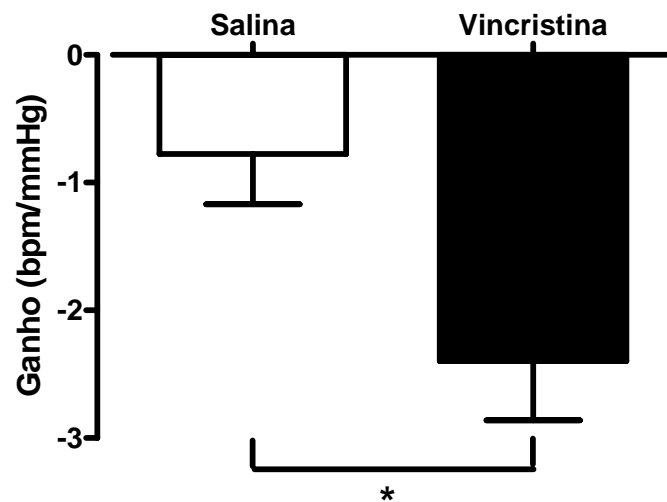


Figura 24 - Ganho (razão entre a variação da frequência cardíaca e a da pressão arterial) após a administração intravenosa de fenilefrina 5 µg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados

Nota: Ganho (razão entre a variação da frequência cardíaca e a variação da pressão arterial média) em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados e com agonista α_1 -adrenérgico fenilefrina 5 µg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As frequências cardíacas e as pressões arteriais médias foram medidas antes (basal) e após o estímulo simpático máximo induzido pela fenilefrina. As barras representam as médias dos ganhos e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. subgrupo controle (salina) ao Teste "t" de Student-Newman-Keuls.

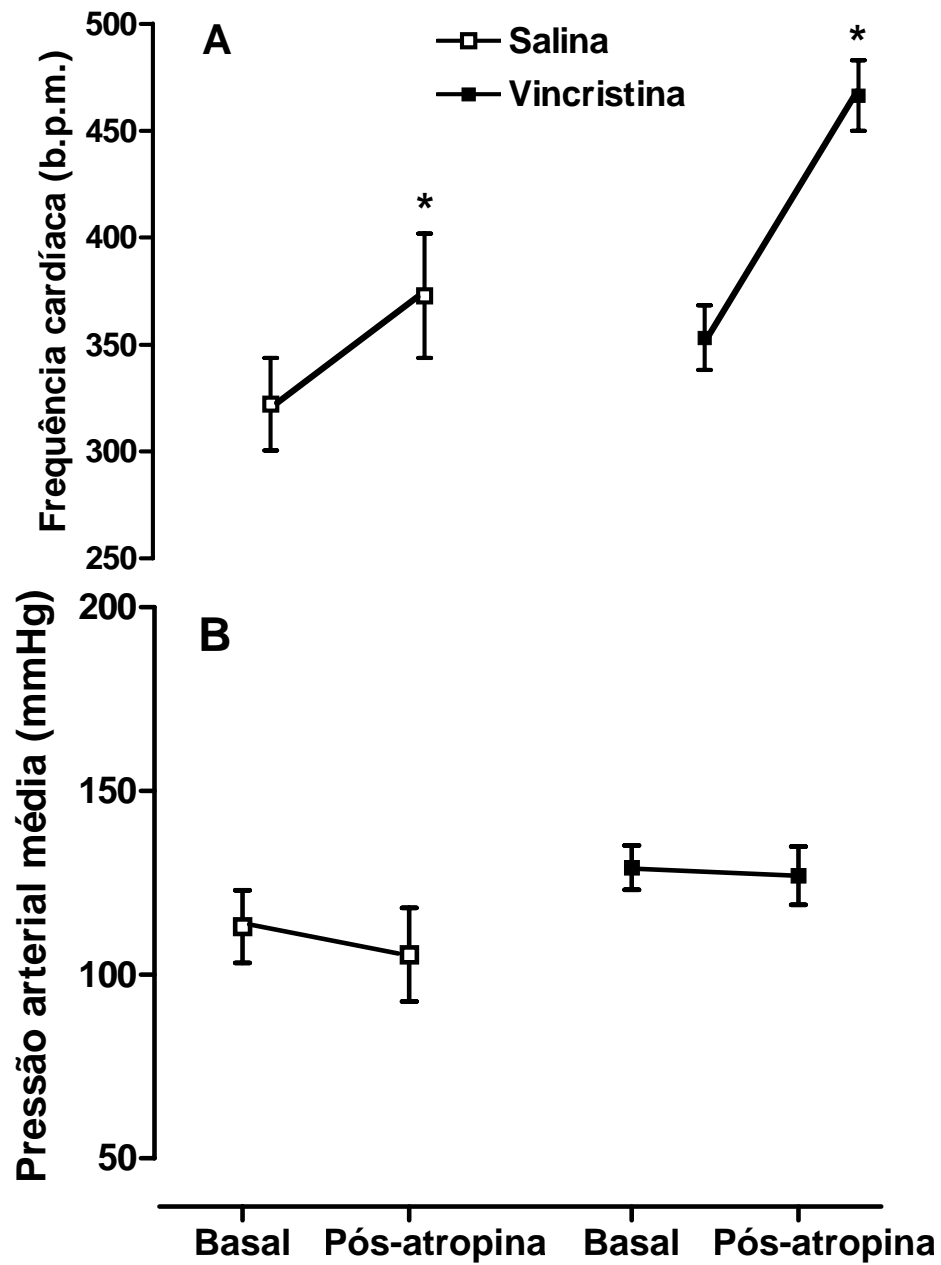


Figura 25 - Pressão arterial média e frequência cardíaca antes (basal) e após a administração intravenosa de atropina 0,5 mg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados

A. Frequência cardíaca em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados e ao bloqueio parassimpático com atropina 0,5 mg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As frequências cardíacas foram medidas antes (basal) e após o bloqueio parassimpático máximo com atropina. Os símbolos representam as médias das frequências cardíacas e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. pré-bloqueio parassimpático (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

B. Pressão arterial média em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=6) ou solução salina (N=5) intravenosa em dias alternados e ao bloqueio parassimpático com atropina 0,5 mg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As pressões arteriais médias foram medidas antes (basal) e após o bloqueio parassimpático máximo com atropina. Os símbolos representam as médias das pressões e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, $P < 0,05$ vs. pré-bloqueio parassimpático (basal) ao Teste One-Way ANOVA com Medidas Repetidas e Teste de Holm-Sidak.

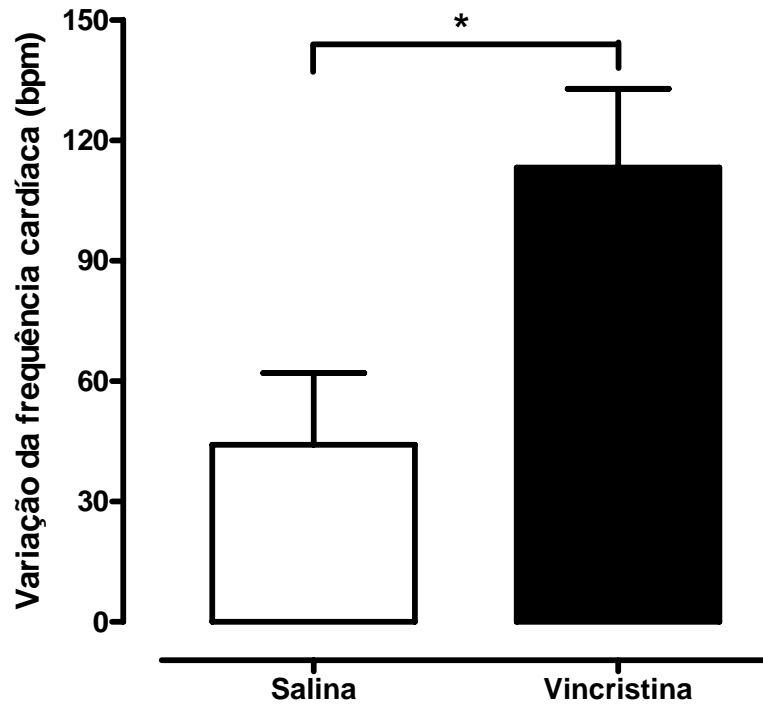


Figura 26 - Variação da frequência cardíaca após a administração intravenosa de atropina 0,5 mg/Kg em ratos acordados e tratados cronicamente com 5 doses de vincristina 150 µg/Kg ou salina em dias alternados

Nota: Variação da frequência cardíaca em ratos acordados submetidos ao tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina (N=7) ou solução salina (N=6) intravenosa em dias alternados e ao bloqueio parassimpático com atropina 0,5 mg/Kg intravenosa. Os animais foram estudados 24 horas após a última dose de vincristina ou salina. As frequências cardíacas foram medidas antes (basal) e após o bloqueio parassimpático e as variações destas calculadas durante o efeito máximo da atropina. As barras representam as médias das variações da frequência cardíaca e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. *, P<0,05 vs. subgrupo controle (salina) ao Teste "t" de Student-Newman-Keuls.

5 DISCUSSÃO

As propriedades benéficas e medicinais da planta pervinca de Madagascar, *Catharantus roseus*, antigamente denominada *Vinca rosea* Linn., foram descritas em várias partes do mundo. Há relatos sobre sua utilização pelos povos indígenas no Brasil desde 1910, como anti-hemorragico, cicatrizante e antisséptico em feridas e em bochechos para dores de dentes (PECKOLT, 1910). Entre os povos filipinos, chegou a ser utilizada como hipoglicemiante oral e para tratar úlcera diabética (JOHNSON *et al.*, 1963).

Em 1958, pesquisadores canadenses e americanos que se dedicavam a estudar o efeito dos extratos da pervinca no *diabetes mellitus* descreveram um efeito modesto sobre a glicemia (NOBLE *et al.*, 1958; JOHNSON *et al.*, 1963). Entretanto, a extraordinária capacidade deste extrato causar granulocitopenia e supressão medular em ratos permitiu a investigação sobre o efeito destes em neoplasias, principalmente os de linhagem hematológica (NOBLE *et al.*, 1958).

Baseados nos resultados sobre os efeitos medulares dos extratos da Vinca, alguns autores demonstraram que certas frações alcalóides deste extrato prolongavam a sobrevivência de camundongos que haviam recebido implante de neoplasia linfocítica aguda P-1534 (JOHNSON *et al.*, 1959).

Estudos fitoquímicos passaram a ser realizados, com isolamento e identificação de quatro alcalóides derivados do extrato da vinca: vinblastina, vinleurosina, vinrosidina e vincristina (SVOBODA *et al.*, 1959). Estes compostos diferem principalmente quanto à toxicidade e ao espectro anti-tumoral. Dois deles, a vinblastina e a vincristina são atualmente utilizados na prática clínica para o tratamento de leucemias, linfomas e tumores sólidos (CHABNER *et al.*, 1996).

A vincristina se mostrou eficaz principalmente no tratamento de leucemia linfoblástica aguda, doença de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin de grandes células, mieloma múltiplo, câncer de mama, carcinoma cervical, tumor trofoblástico do útero (coriocarcinoma), câncer testicular não seminomatoso, tumor de Wilms, sarcoma de Ewing, sarcoma de partes moles, doença histiocítica maligna do adulto, carcinoma de pequenas células de pulmão e neuroblastoma disseminado (CHABNER *et al.*, 1996).

Modelos experimentais para o estudo da eficácia terapêutica da vincristina, assim como também da sua toxicidade têm sido encontrados na literatura desde 1959 (JOHNSON *et al.*, 1959; ZELLER *et al.*, 1979; LAURIE *et al.*, 2005).

Dentre estes modelos experimentais utilizados para o estudo do efeito terapêutico anti-neoplásico da vincristina, vários foram realizados com ratos adultos.

Nos modelos de neoplasias hematológicas em ratos, a dose utilizada chega a ser de 0,5 mg/Kg (LAURIE *et al.*, 2005), similar a dose utilizada nos experimentos deste trabalho para estudo de toxicidade.

Em estudos sobre o efeito anti-tumoral da vincristina em neoplasias sólidas, utilizando modelos experimentais com ratos, a dose eficaz deste quimioterápico chegou a ser de 1 mg/Kg, considerada próxima a 50% da dose letal (DL₅₀) em ratos adultos (ZELLER *et al.*, 1979).

Quanto à toxicidade geral, o efeito da vincristina foi avaliado em diversas espécies de animais. Em coelhos, há relatos de fraqueza muscular seguida de leucopenia e morte após a administração de três a cinco doses de 0,1 a 0,2 mg/kg de vincristina intravenosa. Estudos em gatos revelaram o surgimento de perda de peso, convulsões, leucopenia e morte após o tratamento com duas doses de 0,2 mg/kg intravenosa, enquanto os estudos em cachorros demonstraram o surgimento de tremores, fraqueza muscular, vômitos, leucopenia, sangramento digestivo e morte após a administração de cinco doses semanais de 0,05 mg/Kg. Estudos com macacos mostraram que uma única dose de 4 mg/Kg de vincristina causa constrição pupilar, anorexia, diarreia e morte 30 horas após a dose (JOHNSON *et al.*, 1959).

Nos estudos sobre toxicidade pela vincristina intravenosa em ratos, tratamentos com 5 doses semanais de 0,5 e 0,25 mg/Kg causaram leucopenia, perda de peso e redução da ingestão oral de alimentos. Tratamentos com vincristina intraperitoneal em ratos, em doses diárias de 0,2 mg/Kg, causaram leucopenia, perda de peso, diarreia, alopecia, convulsões e catalepsia, com morte após 10 a 21 doses (JOHNSON *et al.*, 1959). Estudos experimentais realizados chegaram a descrever uma dose DL₅₀ de vincristina intravenosa em ratos de 1,3 mg/Kg (ADAMSON *et al.*, 1965).

Apesar da descrição freqüente sobre mielotoxicidade, perda de peso e morte associada ao uso de vincristina em modelos experimentais (JOHNSON *et al.*, 1959), a neurotoxicidade e os efeitos sobre o trato gastrointestinal vêm sendo os principais fatores limitantes para o uso de doses mais elevadas de vincristina no tratamento

das neoplasias em humanos (ROSENTHAL; KAUFMAN, 1974; EVANS, 1968; HAGGARD *et al.*, 1968).

Um modelo recente (ALEY *et al.*, 1996) mostrou alterações sensitivas induzidas por este quimioterápico, descrevendo inclusive sua evolução temporal e o efeito residual. Entretanto, neste modelo foram utilizadas doses mais elevada de vincristina quando comparado com os experimentos do presente trabalho, resultando em maior toxicidade, com morte de vários animais.

Outro modelo experimental de indução de neuropatia periférica sensitiva e motora após tratamento crônico com vincristina intravenosa em ratos acordados foi descrito (AUTHIER *et al.*, 2003). Neste último, foram utilizadas doses cumulativas mais baixas de vincristina, administradas por período mais curto de tratamento, resultando em uma menor mortalidade dos animais.

Existem relatos na literatura médica sobre a ação tóxica deste quimioterápico no trato gastrintestinal em humanos e animais desde 1965 (ADAMSON *et al.*, 1965). Porém, pouco se tem descrito sobre o mecanismo preciso das alterações na motilidade digestiva, assim como também sobre a relação destas com manifestações neuropáticas sensitivas ou motoras.

Alterações autonômicas como provável mecanismo da toxicidade gastrintestinal, como se postulam alguns autores (SMITH, 1967; SMITH *et al.*, 1972), ainda não foram comprovadas até o momento (JOHNSTON *et al.*, 1985; ROCA *et al.*, 1985) e modelos experimentais são necessários para o estudo dos mecanismos envolvidos nas alterações de motilidade gastrintestinal induzidas pela vincristina.

O presente estudo teve o intuito de descrever o efeito do tratamento agudo, crônico e residual com vincristina intravenosa sobre a motilidade gastrintestinal em ratos acordados. Buscou também identificar, através de modelo experimental, a relação deste efeito com evidências de alterações sensitivas e fenômenos autonômicos cardiovasculares.

Foi utilizado um modelo experimental com ratos Wistar adultos machos acordados e submetidos ao tratamento com vincristina intravenosa, similar ao descrito pelos autores acima (AUTHIER *et al.*, 2003), documentando alterações sensitivas como hiperalgisia térmica e acrescentando dados relativos às alterações autonômicas cardiovasculares e alteração na motilidade gastrintestinal.

Modelos experimentais com animais versando sobre farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade pela vincristina têm sido descritos por outros autores

(EI DAREER *et al.*, 1977; TODD *et al.*, 1979, RAHMANI *et al.*, 1986). Rato parece ser uma espécie adequada para o estudo da toxicidade por este quimioterápico, haja vista os modelos já existentes, além de estes animais tolerarem bem os procedimentos experimentais, estarem disponíveis com facilidade e a um baixo custo.

Diferenças filogenéticas entre ratos e homens limitam a extrapolação de resultados em modelos experimentais como este para seres humanos (RAHMANI *et al.*, 1986). Entretanto, o presente trabalho, assim como estudos semelhantes realizados anteriormente, permite uma melhor compreensão de alterações induzidas pela vincristina e que até então não foram adequadamente estudadas e explicadas pela literatura médica (JOHNSTON *et al.*, 1985).

Este estudo foi constituído por 5 protocolos, os quais procuram estabelecer uma seqüência de raciocínio sobre os fenômenos ocorridos, apesar de não ter o intuito de explicar e conceder uma explicação definitiva sobre as alterações gastrintestinais induzidas pela vincristina e sua associação direta ou não com disfunção autonômica.

Nos protocolos 1, 2, 3 e 4, foi utilizada a técnica de medição simultânea do esvaziamento gástrico e trânsito intestinal, através da quantificação do corante vermelho fenol recuperado no estômago e ao longo de todo intestino delgado (REYNELL; SPRAY, 1956). Esta técnica vem sendo utilizada desde a década de 50, em estudos com animais e atualmente ainda tem uma ampla utilização, tendo em vista que os métodos baseados em radioisótopos e considerados “padrão-ouro” ainda não são tão acessíveis do ponto de vista logístico e financeiro. Além disso, a técnica utilizada já vem sendo amplamente aplicada não somente em outros experimentos de nosso laboratório (GONDIM *et al.*, 1998).

O efeito agudo e crônico da vincristina sobre a motilidade gastrintestinal em modelos animais foi estudado por alguns autores anteriormente (UY *et al.*, 1967; SNINSKY, 1987; KANEKO *et al.*, 2001).

Um estudo experimental com ratos submetidos ao tratamento com dose única de vincristina intravenosa de 1 mg/Kg demonstrou que ocorre distensão abdominal e parada nas contrações intestinais em 80 a 100% dos animais, sugerindo uma diminuição da motilidade gastrintestinal (UY *et al.*, 1967).

O presente estudo também revelou que ocorre redução na motilidade gastrintestinal alta e baixa após o tratamento com vincristina, acrescentando que

este efeito pode depender da dose aplicada e do tempo decorrido após a administração.

No primeiro protocolo, foi avaliado o efeito agudo da administração de vincristina intravenosa em ratos Wistar adultos acordados sobre o esvaziamento gástrico e trânsito intestinal de líquido e os resultados obtidos foram apresentados sob a forma de comunicação oral e publicados em resumo (PEIXOTO Jr *et al.*, 2006).

Neste protocolo, foram utilizadas doses de vincristina similares à praticada por outros autores em dois estudos semelhantes (SNINSKY, 1987; KANEKO *et al.*, 2001). A dose administrada de 750 µg/Kg aplicada uma hora antes do estudo do trânsito intestinal foi também similar a dose cumulativa aplicada nos protocolos 2, 3 e 4 deste mesmo trabalho, em grupos de animais que receberam a maior dose de vincristina.

O estudo realizado por Sninsky (1987) demonstrou que o tratamento com doses de 500 µg/Kg e 750 µg/Kg de vincristina causou aumento desordenado dos potenciais de ação mioelétricos em segmentos do intestino delgado de ratos, medidos 50 minutos após a administração. Em concordância com os achados do efeito agudo do tratamento com vincristina sobre a atividade mioelétrica intestinal, o estudo do trânsito intestinal através da quantificação do deslocamento de um marcador radioativo (radiocromo) ao longo do intestino delgado revelou uma redução no trânsito intestinal.

O estudo de Sninsky (1987) demonstrou, entretanto, que a atividade mioelétrica organizada, mensurada através de eletrodos colocados em segmentos do intestino delgado, reaparecia 70 minutos após a administração de vincristina nas doses de 500 µg/Kg e 750 µg/Kg, agora associada a uma redução da periodicidade do complexo motor migratório. Este achado coincidiu com o aumento do trânsito do marcador radioativo ao longo do intestino delgado.

A ausência de alterações agudas na retenção de corante no estômago ou no intestino delgado após o tratamento com 750 µg/Kg de vincristina pelo presente trabalho pode ser justificada pela diferença entre as metodologias utilizadas para o estudo da motilidade gastrintestinal, quando comparados com os resultados do estudo de Sninsky (1987).

Neste último, a alimentação teste foi administrada no segmento proximal do intestino delgado, enquanto que no presente estudo, o alimento teste foi

administrado no estômago. Além disto, estudos realizados com marcadores radioativos podem ser mais sensíveis na medição de alterações do trânsito gastrointestinal, quando comparados com estudos realizados com corantes.

Em um estudo realizado por Kaneko *et al.* (2001), a motilidade gástrica em ratos acordados, monitorizada através de um transdutor de força suturado na superfície serosa do antro gástrico, 5 mm proximal ao piloro, no eixo circular, foi alterada após a administração de vincristina.

Neste estudo, o efeito agudo, duas horas após a administração de 750 µg/Kg de vincristina resultou em aumento do número de contrações e na amplitude média das contrações, com retorno para os níveis semelhantes ao controle após seis horas. Este efeito da vincristina foi abolido após o bloqueio parassimpático com atropina e hexametônio, sendo sugerido, por estes autores, que esta resposta gastrointestinal ao tratamento agudo com vincristina seja mediada por neurônios colinérgicos pré-sinápticos.

Diferente do estudo realizado por Kaneko *et al.* (2001), o presente estudo não revelou aumento da motilidade gastrointestinal, medida pela retenção gástrica de corante vermelho fenol uma hora após o tratamento agudo com 750 µg/Kg de vincristina. Apesar da divergência entre os resultados, há de se considerar a diferença significativa entre as metodologias utilizadas.

Esta diferença pode indicar que, apesar do aumento da amplitude de contrações descritas por Kaneko *et al.* (2001), este não reflete aumento do esvaziamento gástrico.

Outra diferença a ser considerada é o fato de que as alterações encontradas por Kaneko *et al.* (2001) foram descritas duas horas após a administração de vincristina, enquanto que no presente estudo, a medição da retenção de corante foi realizada uma hora após o tratamento com vincristina.

No segundo protocolo, foi estudado o efeito do tratamento crônico com vincristina intravenosa em ratos Wistar adultos acordados.

Nos animais que receberam a menor dose de vincristina (150 µg/Kg) e foram sacrificados 24 horas após não foi evidenciado retenção de corante no estômago ou em segmentos proximais do intestino delgado quando comparado com os animais do subgrupo controle. Também não houve diferença entre a recuperação de corante no estômago e segmentos do intestino delgado no subgrupo de animais tratados com 2 doses de 100 µg/Kg de vincristina, perfazendo uma dose cumulativa de 200

$\mu\text{g/Kg}$. Nestes dois subgrupos de animais também não foi evidenciado aumento do peso dos cólons, quando comparado aos subgrupos tratados com doses similares de solução salina.

Dentre os animais destes dois subgrupos, houve uma diminuição do tempo de latência no teste da placa quente 24 horas após a dose de $150 \mu\text{g/Kg}$ e 24 horas após a primeira dose de $100 \mu\text{g/Kg}$ vincristina com significância estatística.

Nos subgrupos de animais que receberam doses cumulativas mais altas de vincristina, houve retenção gástrica de corante.

A dose mínima que resultou em diminuição do esvaziamento gástrico foi de $250 \mu\text{g/Kg}$, no subgrupo tratado com 5 doses de $50 \mu\text{g/Kg}$ de vincristina, sem evidência ainda de constipação através do método de medição do peso dos cólons. Neste mesmo subgrupo, houve uma redução do tempo de latência no teste da placa quente após a primeira e a quinta doses de $50 \mu\text{g/Kg}$, sendo estas diferentes estatisticamente quando comparadas aos resultados basais.

Nos subgrupos que receberam tratamento crônico com 3, 4 e 5 doses de $100 \mu\text{g/Kg}$, perfazendo uma dose cumulativa de 300 a $500 \mu\text{g/Kg}$ de vincristina, houve alteração da motilidade gastrintestinal alta, com retenção de corante no estômago. Nestes grupos também não houve evidências de constipação através do peso dos cólons, mas sim uma redução no tempo de latência térmica com significância estatística 24 horas após a primeira, terceira e quinta doses de $100 \mu\text{g/Kg}$ de vincristina.

Alterações mais importantes na motilidade gastrintestinal ocorreram após o tratamento crônico com 2 e 5 doses de $150 \mu\text{g/kg}$ de vincristina. Após 2 doses de $150 \mu\text{g/Kg}$ deste quimioterápico em dias alternados, a recuperação gástrica de corante foi mais significativa, associada desta vez com aumento do peso dos cólons. Este resultado se repetiu com o tratamento com dose cumulativa máxima de $750 \mu\text{g/Kg}$, dividida em 5 administrações em dias alternados.

No estudo de Sninsky (1987), o efeito crônico do tratamento com $500 \mu\text{g/Kg}$ e $750 \mu\text{g/kg}$ de vincristina sobre a atividade mioelétrica no intestino delgado, mensurado três dias após a administração de vincristina revelou uma redução significativa nos potenciais de ação organizados em 20 e 40% dos animais respectivamente. Este efeito descrito por Sninsky (1987) pode coincidir com os achados do presente estudo, no qual foi verificado um aumento da retenção gástrica

de corante um dia após o tratamento com doses cumulativas de 500 µg/Kg e 750 µg/Kg de vincristina.

Quanto ao efeito crônico, medido 24 horas após o tratamento com 750 µg/Kg de vincristina, o estudo de Kaneko *et al.* (2001) revelou diminuição na motilidade gastrointestinal mensurada através da amplitude de contração. No presente estudo, o efeito crônico do tratamento com dose cumulativa de 750 µg/Kg de vincristina mostrou aumento na retenção gástrica de corante, indicando também uma diminuição da motilidade gastrointestinal.

Entretanto, houve divergência entre as doses mínimas que resultaram em diminuição da motilidade gastrointestinal. Neste estudo, houve aumento da retenção gástrica de corante após uma dose cumulativa de 250 µg/Kg. No estudo de Kaneko *et al.* (2001), esta dose, aplicada de uma única vez, não resultou em redução da amplitude de contrações no antro gástrico, um dia após o tratamento.

Esta divergência indica também que a metodologia pode influenciar o estudo dos efeitos da vincristina sobre a motilidade e que a medição da amplitude de contração não foi sensível o suficiente para identificar uma redução no esvaziamento gástrico após doses baixas como 250 µg/Kg de vincristina.

Ainda no estudo realizado por Kaneko *et al.* (2001), a administração de acetilcolina resultou em aumento da amplitude de contração em animais tratados com a dose máxima de vincristina e os autores sugeriram que o efeito da vincristina não seria, portanto, sobre as células musculares lisas do intestino.

No protocolo 3, foi avaliado o efeito residual da vincristina sobre a motilidade gastrointestinal alta e baixa, assim como também sobre a sensibilidade dolorosa térmica.

Após a administração de 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina e seguimento dos animais por um período de uma e duas semanas, foi verificada a reversão completa da retenção gástrica de corante após uma semana e da constipação, mensurada através do peso colônico, após duas semanas. Quanto às alterações sensitivas induzidas pela vincristina, houve redução progressiva do tempo de latência térmica ao logo do seguimento, quando mensurado após uma e duas semanas.

No protocolo 4, foi estudado subgrupos de animais tratados com dose cumulativa máxima de vincristina (750 µg/Kg) ou salina e submetidos ao bloqueio simpático com guanetidina antes do estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito

intestinal de líquido. A ação do agente simpaticolítico não foi suficiente para reverter o aumento da retenção gástrica de corante.

Vários estudos previamente realizados confirmam que os fenômenos dolorosos, somáticos ou viscerais, podem estar associados à inibição da motilidade gastrointestinal (SATO *et al.*, 1975; BOJÖ *et al.*, 1992, BOJÖ; CASSUTO, 1992).

O estudo realizado por Sato *et al.* (1975) demonstrou alterações na motilidade gástrica associadas a estímulo nociceptivo em pele de ratos.

No estudo realizado por Bojö *et al.* (1992), o efeito de relaxamento gástrico foi induzido pelo estímulo doloroso causado pela compressão do testículo em ratos. Neste mesmo estudo, foi verificado que o uso de bloqueador- α_1 (prazosin) e um β -bloqueador não seletivo (propranolol) aboliu este o relaxamento gástrico induzido pelo estímulo doloroso. Além disto, a vagotomia cervical bilateral também aboliu a resposta gástrica a dor, enquanto que o uso de um bloqueador adrenérgico α_2 -seletivo resultou em potencialização do relaxamento gástrico induzido pelo estímulo doloroso. Diante destes achados, os autores sugeriram que o relaxamento gástrico induzido pelo estímulo doloroso seria resultante de um reflexo mediado pela via simpática, com participação dos receptores α_1 e β e, possivelmente, também via fibras vagais não-adrenérgicas.

No presente estudo, no qual foi utilizado o modelo de neuropatia sensitiva induzida pela vincristina descrito por Authier *et al.* (2003), foi documentada a indução de neuropatia dolorosa térmica, caracterizada pela redução da latência térmica no teste da placa quente.

A princípio, o surgimento de hiperalgesia térmica após o tratamento com vincristina poderia estar associado também a um relaxamento gástrico mediado pela via simpática e, conseqüentemente, com o aumento da retenção gástrica de corante.

Entretanto, foi verificado que, durante o acompanhamento dos animais pelo período de duas semanas, o aumento da retenção gástrica de corante induzido pela vincristina ocorreu de forma transitória, com reversão completa do retardo do esvaziamento gástrico uma semana após a última dose do tratamento com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Enquanto isto, as alterações nociceptivas permaneceram por pelo menos até duas semanas, com redução progressiva do tempo de latência térmica no teste da placa quente avaliado um dia, uma semana e duas semanas após a última dose do tratamento com 5 doses de 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de vincristina.

Foi verificado também que o aumento da retenção gástrica de corante induzido pelo tratamento com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina não foi revertido pelo bloqueio simpático com guanetidina.

Diante destes achados, a inibição do esvaziamento gástrico associada à nocicepção e mediada pelo reflexo via fibras simpáticas, conforme o modelo proposto por Bojö *et al.* (1992), não justifica os resultados encontrados no presente trabalho e os fenômenos dolorosos induzidos pela vincristina pode não ser a única explicação para o retardo no esvaziamento gástrico encontrado.

A distensão colônica também tem sido associada a inibição da motilidade gástrica. Estudo realizado por Bojö e Cassuto (1992), demonstrou que a distensão colônica em ratos anestesiados produziu relaxamento gástrico. Este efeito foi revertido por vagotomia cervical bilateral e bloqueio parassimpático com hexametônio, não havendo reversão deste com o uso de bloqueadores adrenérgicos, naloxona e antagonistas de receptores opióides.

A inibição do tônus gástrico associada à dilatação colônica provavelmente não é o único mecanismo responsável pelo aumento da retenção gástrica de corante no presente estudo. Os animais estudados apresentaram aumento do peso dos cólons somente nos subgrupos tratados com 2 e 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina, enquanto que o retardo do esvaziamento gástrico foi detectado também após doses menores deste quimioterápico, à partir de 5 doses de 50 µg/Kg. Houve aumento da retenção gástrica também em animais tratados com 3 a 5 doses de 100 µg/Kg de vincristina, sem aumento do peso dos cólons, indicando que o reflexo entero-entérico, mediado via nervo vago, não foi o único fator envolvido no retardo do esvaziamento gástrico.

No protocolo 5, foi estudado subgrupos de animais tratados também com dose cumulativa máxima de vincristina ou salina e submetidos a monitorização dos níveis pressóricos e frequência cardíaca contínua.

O estímulo α -adrenérgico com fenilefrina resultou em aumento dos níveis pressóricos e redução reflexa da frequência cardíaca em animais do subgrupo experimental e controle. Porém, a redução reflexa da frequência cardíaca foi mais significativa nos animais submetidos ao tratamento com vincristina, quando comparada com os que receberam solução salina. A razão entre a variação da frequência cardíaca e a variação da pressão arterial (ganho) também foi mais alta no subgrupo experimental quando comparada com a do subgrupo controle.

O bloqueio parassimpático com atropina resultou em aumento da frequência cardíaca nos animais tratados com vincristina e salina. Entretanto, os aumentos da frequência cardíaca e da variação da frequência cardíaca foram estatisticamente mais elevados nos animais do subgrupo experimental quando comparada com o subgrupo controle.

A toxicidade da vincristina sobre o sistema nervoso autonômico vem sendo proposta com o mecanismo responsável por alterações gastrintestinais altas e baixas em humanos. Constipação, megacólon, dor abdominal, íleo paralítico e gastroparesia têm sido descritos durante o tratamento com vincristina (EVANS *et al.*, 1963; EVANS, 1968; HAGGARD *et al.*, 1968; TOGHILL; BRUKE, 1970; ROSEMBERG; CARidi, 1983; TOMOMASA *et al.*, 1999).

A ocorrência de outros fenômenos associados ao tratamento com vincristina como disfunções esfinterianas, atonia vesical, flutuação anormal na pressão arterial e hipotensão ortostática também sugerem a ocorrência de neurotoxicidade autonômica (CARMICHAEL *et al.*, 1970; GOTTLIEB; CUTTNER, 1971; ROSENTHAL; KAUFMAN, 1974; DIBELLA, 1980; LEGHA, 1986).

A ocorrência de dano axonal como processo patológico primário associado ao tratamento com alcalóides da Vinca foi documentada em humanos e em ratos com sinais de neuropatia periférica por Gottschalk *et al.* (1968).

Alguns autores defendem a hipótese de que um dano axonal com redução na densidade e a desorientação dos microtúbulos em fibras não-mielinizadas após o tratamento com vincristina sejam mecanismos possivelmente associados a alterações no transporte axonal (SHELANSKI; WIŚNIEWSKI, 1968; BRADLEY *et al.*, 1970; CASEY *et al.*, 1973; WEISS *et al.*, 1974).

Em um estudo mais recente, realizado com modelo de neuropatia periférica induzida por vincristina em ratos (ALEY *et al.*, 1996), a análise ultra-estrutural do citoesqueleto de axônios em fibras não-mielinizadas do nervo safeno revelou desorganização dos microtúbulos e aumento do calibre das fibras, sem evidências de perda das fibras não-mielinizadas ou redução do número de microtúbulos (TANNER *et al.*, 1998).

Em outro estudo, foi documentado o bloqueio do transporte axonoplasmático retrógrado 24 horas após a administração de vincristina intraneural em nervo ciático de ratos. Além disto, neste mesmo estudo, verificou-se que o efeito foi revertido ao

longo de quatro dias, com normalização do transporte axonoplasmático retrógrado no quinto dia após o tratamento com vincristina (MACFARLANE *et al.*, 1997).

O bloqueio do transporte axonoplasmático retrógrado tem sido associado à redução no efeito inibitório neuronal e aumento da excitabilidade, a qual parece ser o mecanismo envolvido com dor, alodínia e algumas doenças músculo-esqueléticas (BREUER; ATKINSON, 1988; WALL; MELZACK, 1989; BUTLER, 1991).

No presente estudo, a neuropatia periférica sensitiva tipo hiperalgesia térmica após o tratamento com vincristina foi documentada, sendo esta possivelmente associada a alterações nos microtúbulos e no transporte axonoplasmático retrogrado descrito anteriormente.

Apesar dos vários estudos em humanos e em animais sobre a fisiopatologia envolvida na neuropatia sensitiva induzida pela vincristina, poucos trabalhos objetivando documentar, com substrato histológico, a neurotoxicidade autonômica da vincristina, foram realizados.

Estudos em camundongos, mostraram dilatação do intestino delgado e degeneração do plexo mioentérico no cólon após o tratamento com vinblastina, um alcalóide da vinca com estrutura química semelhante à vincristina, exceto pela troca do grupamento formil pelo grupamento metil ligado ao nitrogênio na porção dihidroindol da molécula (SMITH, 1967).

Estudos realizados em ratos, também revelaram degeneração do plexo mioentérico após o tratamento com vincristina (GOTTSCHALK *et al.*, 1968).

Quanto às evidências fisiológicas de disautonomia gastrointestinal, pesquisadores demonstraram que a vincristina causou inibição progressiva, dose-dependente, da contração do estômago de rato isolado e submetido a estímulo elétrico do nervo vago. Demonstraram também que a vincristina não interferiu na resposta do receptor periférico parassimpático do estômago de rato isolado à acetilcolina exógena e levantaram a hipótese de que este quimioterápico teria ação anticolinérgica pós-sináptica (MITOLO-CHIEPPA *et al.*, 1976).

Outro grupo de pesquisadores avaliou o efeito dos alcalóides da Vinca sobre o ducto deferente de ratos. Identificaram, através de experimentos *in vitro*, que a vinblastina causou aumento da sensibilidade à noradrenalina, além de evidências bioquímicas, histoquímicas e ultra-estruturais de depleção de noradrenalina em nervos da camada muscular longitudinal externa (GARDINER *et al.*, 1976).

No presente estudo, o aumento da retenção gástrica de corante documentado após o tratamento com vincristina pode ser associado a um efeito autonômico anticolinérgico semelhantes aos descritos por Mitolo-Chieppa *et al.* (1976).

O surgimento de constipação, documentada através do aumento do peso dos cólons em dois subgrupos de animais tratados com vincristina também pode ser associado à neuropatia autonômica transitória ou com degeneração de plexo mientérico conforme documentado por Gottschalk *et al.* (1968).

Evidências de neurotoxicidade autonômica cardiovascular induzida pela vincristina em ratos também foram descritas. Estudo realizado por Bennett *et al.* (1976) evidenciou, através da avaliação ultra-estrutural das fibras nervosas e histoquímica do tecido atrial, degeneração de fibras adrenérgicas e preservação de fibras colinérgicas 30 horas após o tratamento com dose única de 3 mg/Kg de vincristina intravenosa.

Relatos de casos em humanos também associaram efeitos cardiovasculares como hipotensão ortostática com neurotoxicidade autonômica pela vincristina (HANCOCK; NAYSMITH, 1975).

Em trabalhos mais recentes, outros autores demonstraram que a medição da variabilidade da frequência cardíaca é um método válido para a monitorização da neuropatia autonômica transitória induzida pela vincristina em humanos (HIRVONEN *et al.*, 1989).

Ainda em estudos realizados em humanos, foi verificada uma variação anormal da pressão arterial e da frequência cardíaca com a ortostase e da frequência cardíaca durante a inspiração profunda em indivíduos tratados com alcalóides da Vinca, quando comparados com indivíduos controle (ROCA *et al.*, 1985).

Nos experimentos realizados no protocolo 5 do presente trabalho foram evidenciadas alterações possivelmente associadas a uma neuropatia autonômica cardiovascular induzida pelo tratamento com vincristina em ratos acordados. Estudos versando sobre metodologia para determinar o funcionamento do sistema nervoso autonômico cardiovascular em ratos acordados descrevem testes semelhantes aos realizados neste protocolo (DUNLAP *et al.*, 1987).

Foi documentada uma resposta parassimpática exacerbada caracterizada por bradicardia reflexa mais intensa após o aumento dos níveis pressóricos induzido pelo agonista α_1 -adrenérgico fenilefrina em animais tratados com vincristina.

Além disto, foi identificado também um aumento mais significativo da frequência cardíaca e uma maior variação da frequência cardíaca após o bloqueio parassimpático com atropina em animais tratados com vincristina, quando comparados com o subgrupo controle.

Estes resultados possivelmente estão associados a preponderância do sistema nervoso parassimpático sobre o simpático nestes animais, sendo um dos indícios de neuropatia autonômica associada à vincristina no modelo experimental utilizado.

A redução da frequência cardíaca também tem sido associada à distensão coloretal em ratos anestesiados (LI; SUZUKI, 2006). Ainda em estudos *in vivo* com ratos anestesiados, verificou-se um aumento do tônus parassimpático, caracterizado por hipersecreção de água no cólon induzido pela distensão retal. Este efeito foi bloqueado por vagotomia e pelo bloqueio parassimpático com atropina e hexametônio (EUTAMENE *et al.*, 1997).

O fato de os animais tratados com 5 doses de 150 µg/Kg de vincristina intravenosa em dias alternados desenvolverem constipação, caracterizada por aumento do peso dos cólons, pode interferir no reflexo autonômico com tônus parassimpáticos exacerbado e redução mais significativa da frequência cardíaca (EUTAMENE *et al.*, 1997; LI; SUZUKI, 2006).

Entretanto, o estudo realizado por Bennet *et al.* (1976) em átrios de ratos, já citado anteriormente, reforça a possibilidade de que a neurotoxicidade autonômica pela vincristina seja responsável, pelo menos em parte, pelas alterações no barorreflexo encontradas no presente trabalho.

Além disto, o surgimento de outros fenômenos sugestivos de neuropatia autonômica, como o retardo no esvaziamento gástrico e do trânsito gastrointestinal de líquido, reforça a hipótese de neurotoxicidade autonômica induzida pela vincristina.

A ação tóxica de quimioterápicos sobre a mucosa gastrointestinal vem sendo descrita na literatura. Estudos com mucosite intestinal induzida por irinotecan e metrotexate têm sido realizados por alguns autores (MELO *et al.*, 2008; CARNEIRO-FILHO *et al.*, 2004), entretanto não há estudos sobre este efeito induzido por vincristina. Também não há relatos na literatura, até o momento, sobre o comprometimento do plexo mientérico associado à mucosite induzida por quimioterápicos.

O surgimento de retardo no esvaziamento gástrico, constipação intestinal e alterações no baroreflexo cardiovascular em ratos acordados e submetidos ao tratamento com vincristina é um dos indícios de que este modelo experimental pode vir a ser utilizado como mais um modelo de neuropatia autonômica.

Modelos de neuropatia autonômica têm sido descritos em ratos e em camundongos diabéticos induzido com estreptozocina (SCHMIDT *et al.*, 1983, 2003).

Entretanto, ratos diabéticos induzidos por estreptozocina podem não ser considerados o modelo ideal de neuropatia autonômica, tendo em vista que o aumento dos níveis pressóricos associado ao tratamento com estreptozocina pode influenciar o estudo do baroreflexo e da variação da frequência cardíaca (BUÑAG *et al.*, 1982).

Dentre os animais tratados com vincristina não houve aumento dos níveis pressóricos basais, quando comparados com os animais que receberam solução salina e este dado sugere que o modelo de neuropatia autonômica induzida pela vincristina seja melhor para o estudo de baroreflexos.

Experimentos utilizando modelo de diabetes em ratos BB normotensos não identificaram alteração no baroreflexo após o teste com agonista α_1 -adrenérgico, impossibilitando, portanto, o uso destes animais em modelos de neuropatia autonômica (KRIZSAN-AGBAS; BUÑAG, 1991).

Outro modelo experimental de neuropatia autonômica foi descrito recentemente. Neste modelo, coelhos imunizados com uma proteína de fusão correspondente ao domínio extracelular N-terminal da subunidade α_3 do receptor gangliônico da acetilcolina, produziram anticorpos IgG contra os receptores gangliônicos. Estes foram injetados em camundongos, os quais desenvolveram neuropatia autonômica auto-imune semelhante a que ocorre em humanos, com surgimento de alteração transitória da motilidade gastrintestinal, retenção urinária, dilatação pupilar, diminuição da variabilidade da frequência cardíaca e diminuição da liberação de catecolaminas durante o estresse (VERNINO *et al.*, 2004). Ainda neste modelo, os estudos imunohistoquímicos revelaram que as terminações nervosas pré-sinápticas e pós-sinápticas permaneciam intactas, com redução dos receptores de acetilcolina (VERNINO *et al.*, 2003).

O modelo de disautonomia proposto por Vernino *et al.* (2004) necessita de utilização de técnicas laboratoriais especializadas de imunologia para isolamento de anticorpos, o qual dificulta a utilização deste em outros centros de pesquisa.

No modelo descrito pelo presente trabalho, foi evidenciado, portanto, retardo no esvaziamento gástrico e no trânsito gastrointestinal de líquido e constipação durante o tratamento crônico com vincristina e este provavelmente está associado a um efeito transitório deste quimioterápico sobre o controle autonômico da motilidade gastrointestinal.

Nesse modelo, a indução de alterações nas respostas autonômicas cardiovasculares sugere que a disautonomia induzida por vincristina em ratos não é restrita apenas ao trato gastrointestinal.

O modelo de disautonomia induzida por vincristina em ratos acordados descrito pelo presente estudo não requer aparato técnico especializado e pode ser utilizado para o estudo de neuropatia tóxica autonômica induzida por fármacos.

A toxicidade sistêmica e a mortalidade dos animais foram baixas, similares aos estudos anteriores (AUTHIER *et al.*, 2003), validando a importância e a reprodutibilidade do modelo experimental utilizado no presente trabalho.

Os efeitos sobre a motilidade gastrointestinal e sobre a resposta autonômica cardiovascular surgiram após o tratamento com doses de vincristina consideradas terapêuticas em modelos experimentais de neoplasias hematológicas e de tumores sólidos em ratos e bem inferiores a 50% da dose letal (DL₅₀) nestes animais. Estes fatos reforçam também o valor dos resultados encontrados neste trabalho.

6 CONCLUSÕES

Como principais conclusões, o presente estudo realizado em ratos acordados mostra que:

1. O tratamento agudo com vincristina não inibe o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquido. O tratamento crônico, por sua vez, causa retardo transitório na motilidade gastrintestinal alta e baixa.
2. O retardo no esvaziamento gástrico é induzido por doses mais baixas de vincristina quando comparadas com as doses que causam constipação, indicando que a dilatação colônica não é o único mecanismo reponsável por este efeito.
3. A hiperalgesia térmica é induzida por dose mais baixas de vincristina quando comparadas com as doses que inibem a motilidade gastrintestinal, e persiste por pelo menos duas semanas, indicando que a dor não é o único mecanismo responsável pelo retardo no esvaziamento gástrico induzido por vincristina.
4. A depleção da função do sistema nervoso simpático pela guanetidina não reverte o efeito da vincristina sobre a motilidade gastrintestinal, indicando que as alterações na motilidade não são causadas por aumento do tônus simpático.
5. O tratamento crônico com vincristina causa uma resposta exacerbada ao desafio com fenilefrina e ao bloqueio parassimpático com atropina, indicando que a vincristina induz uma disautonomia cardiovascular com alterações de barorreflexos.
6. A disautonomia cardiovascular induzida por vincristina reforça a idéia de que alterações autonômicas podem ser responsáveis pelo retardo no esvaziamento gástrico, na motilidade do intestino delgado e constipação que surgem durante o tratamento com este quimioterápico.

REFERÊNCIAS

- ADAMSON, R. H.; DIXON, R. L.; CREWS, B. L.; SHOHET, S. B.; RALL, D. P. Some pharmacologic properties of vincristine. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 157, n. 2, p. 299-311, 1965.
- ALBERT, D. M.; WONG, V. G.; HENDERSON, E. S. Ocular complications of vincristine therapy. **Arch. Ophthalmol.**, v. 78, p. 709-713, 1967.
- ALEY, K. O.; REICHLING, D. B.; LEVINE, J. D. Vincristine hyperalgesia in the rat: a model of painful vincristine neuropathy in humans. **Neuroscience**, v. 73, n. 1, p. 259-265, 1996.
- ALLAN, V. J.; VALE, R. D. Cell cycle control of microtubule-based membrane transport and tubule formation in vitro. **J. Cell Biol.**, v. 113, n. 2, p. 347-359, 1991.
- ANDERSON, P. J.; SONG, S. K.; SLOTWINER, P. The fine structure of spheromembranous degeneration of skeletal muscle induced by vincristine. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 26, n. 1, p. 15-24, 1967.
- ARMSTRONG, J. G.; DYKE, R. W.; FOUTS, P. J.; JANSEN, C. J. Delivery of a normal infant during the course of oral vinblastine sulfate therapy for hodgkin's disease. **Ann. Intern. Med.**, v. 61, p. 106-107, 1964.
- ASSAN, R.; SOUFFLET, E.; BALLERIO, G.; ATTAILI, J. R.; BOILLOT, J.; GIRARD, J. R. Ambiguous effects of colchicine and vincristine upon A2-cell response to arginine. **Diabetologia**, v. 14, n. 2, p. 121-127, 1978.
- AUTHIER, N. ; GILLET, J. P. ; FIALIP, J. ; ESCHALIER, A. ; COUDORE, F. A new animal model of vincristine-induced nociceptive peripheral neuropathy. **Neurotoxicology**, v. 24, n. 6, p. 797-805, 2003.
- AUTHIER, N.; GILLET, J. P.; FIALIP, J.; ESCHALIER, A.; COUDORE, F. Description of a short-term Taxol[®]-induced nociceptive neuropathy in rats. **Brain Res.**, v. 887, n. 2, p. 239-249, 2000.
- BEER, C. T.; RICHARDS, J. F. The metabolism of vinca alkaloids. Part II. The fate of tritiated vinblastine in rats. **Lloydia**, v. 27, p. 352-360, 1964.
- BENNETT, T. ; GARDINER, S. M. ; TOMLINSON, D. R. Selective noradrenergic denervation of the heart following intravenous injections of vinblastine or vincristine. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 293, n. 2, p.175-182, 1976.
- BERENSON, M. P. Recovery after inadvertent massive overdosage of vincristine (NSC-67574). **Cancer Chemother. Rep.**, v. 55, n. 5, p. 525-526, 1971.
- BOHANNON, R. A.; MILLER, D. G.; DIAMOND, H. D. Vincristine in the treatment of lymphomas and leukemias. **Cancer. Res.**, v. 23, p. 613-621, 1963.

BOJÖ, L.; CASSUTO, J.; NELLGÅRD, P. Pain-induced inhibition of gastric motility is mediated by adrenergic and vagal non-adrenergic reflexes in the rat. **Acta Physiol. Scand.**, v. 146, n. 3, p. 377-383, 1992.

BOJÖ, L.; CASSUTO, J. Gastric reflex relaxation by colonic distension. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 38, n. 1, p. 57-64, 1992.

BRADLEY, W. G. The neuromyopathy of vincristine in the guinea pig. An electrophysiological and pathological study. **J. Neurol. Sci.**, v. 10, n. 2, p. 133-162, 1970.

BRADLEY, W. G.; LASSMAN, L. P.; PEARCE, G. W.; WALTON, J. N. The neuromyopathy of vincristine in man. Clinical, electrophysiological and pathological studies. **J. Neurol. Sci.**, v. 10, n. 2, p. 107-131, 1970.

BREUER, A. C.; ATKINSON, M. B. Fast axonal transport alterations in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and in parathyroid hormone (PTH)-treated axons. **Cell Motil. Cytoskeleton.**, v. 10, n. 1/2, p. 321-330, 1988.

BUDMAN, D. R. Vinorelbine (Navelbine): a third-generation vinca alkaloid. **Cancer Invest.**, v. 15, n. 5, p. 475-490, 1997.

BUÑAG, R. D.; TOMITA, T.; SASAKI, S. Streptozotocin diabetic rats are hypertensive despite reduced hypothalamic responsiveness. **Hypertension**, v. 4, n. 4, p. 556-565, 1982.

BUTLER, D. **Mobilisation of the Nervous System**. [S.l.]: Churchill Livingstone, 1991.

CARDOSO, L. M.; PEDROSA, M. L.; SILVA, M. E.; MORAES, M. F.; COLOMBARI, E.; CHIANCA, D. A. Baroreflex function in conscious rats submitted to iron overload. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 38, n. 2, p. 205-214, 2005.

CARMICHAEL, S. M.; EAGLETON, L.; AYERS, C. R.; MOHLER, D. Orthostatic hypotension during vincristine therapy. **Arch. Intern. Med.**, v. 126, n. 2, p. 290-293, 1970.

CARNEIRO-FILHO, B. A.; LIMA, I. P.; ARAUJO, D. H.; CAVALCANTE, M. C.; CARVALHO, G. H.; BRITO, G. A.; LIMA, V.; MONTEIRO, S. M.; SANTOS, F. N.; RIBEIRO, R. A.; LIMA, A. A. Intestinal barrier function and secretion in methotrexate-induced rat intestinal mucositis. **Dig. Dis. Sci.**, v. 49, n. 1, p. 65-72, 2004.

CASEY, E. B.; JELLIFE, A. M.; LE QUESNE, P. M.; MILLETT, Y. L. Vincristine neuropathy. Clinical and electrophysiological observations. **Brain**, v. 96, n. 1, p. 69-86, 1973.

CAVIEZEL, F.; POLI, M.; POZZA, G. Effect of vincristine on glucose-induced insulin secretion in man. **Experientia**, v. 33, n. 7, p. 970-971, 1977.

CHABNER, B. A.; ALLEGRA, C. J.; CURT, G. A.; CALABRESI, P. Agentes Antineoplásicos. *In*: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. p. 909-949.

THE CHEMICAL HERITAGE FOUNDATION. **Methods of treatment:** vinblastine: from Jamaica to a cure. 2001. Disponível em: <<http://www.chemheritage.org/EducationalServices/pharm/chemo/readings/blastine.htm>>. Acesso em: 25 May 2009.

CLARKE, J. T.; KARPATI, G.; CARPENTER, S.; WOLFE, L. S. The effect of vincristine on skeletal muscle in the rat. A correlative histochemical, ultrastructural and chemical study. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 31, n. 2, p. 247-266, 1972.

CLEVELAND, D. W.; HOFFMAN, P. N. Slow axonal transport models come full circle: evidence that microtubule sliding mediates axon elongation and tubulin transport. **Cell**, v. 67, n. 3, p. 453-456, 1991.

COHLAN, S. Q. Teratogenic agents and congenital malformations. **J. Pediatr.**, v. 63, p. 650-659, 1963.

COOPLAND, A. T.; FRIESEN, W. J.; GALBRAITH, P. A. Acute leukemia in pregnancy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 105, n. 8, p. 1288-1289, 1969.

CROM, W. R.; DE GRAAF, S. S.; SYNOLD, T.; UGES, D. R.; BLOEMHOF, H.; RIVERA, G.; CHRISTENSEN, M. L.; MAHMOUD, H.; EVANS, W. E. Pharmacokinetics of vincristine in children and adolescents with acute lymphocytic leukemia. **J. Pediatr.**, v. 125, n. 4, p. 642-649, 1994.

CUTTING, H. O. Inappropriate secretion of antidiuretic hormone secondary to vincristine therapy. **Am. J. Med.**, v. 51, n. 2, p. 269-271, 1971.

CUTTS, J. H.; BEER, C. T.; NOBLE, R. L. Biological properties of Vincalokoblastine, an alkaloid in *Vinca rosea* Linn, with reference to its antitumor action. **Cancer Res.**, v. 20, p. 1023-1031, 1960.

EL DAREER, S. M.; WHITE, V. M.; CHEN, F. P.; MELLET, L. B.; HILL, D. L. Distribution and metabolism of vincristine in mice, rats, dogs, and monkeys. **Cancer Treat. Rep.**, v. 61, n. 7, p. 1269-1277, 1977.

DESAI, D. V.; EZDINLI, E. Z.; STUTZMAN, L. Vincristine therapy of lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. **Cancer**, v. 26, p. 352-359, 1970.

DEVIS, G. ; VAN OBERGHEN, E. ; SOMERS, G. ; MALAISSE-LAGAE, F. ; ORCI, L. ; MALAISSE, W. J. Dynamics of insulin release and microtubular-microfilamentous system. II. Effect of vincristine. **Diabetologia**, v. 10, n. 1, p. 53-59, 1974.

DIBELLA, N. J. Vincristine-induced orthostatic hypotension: a prospective clinical study. **Cancer Treat. Rep.**, v. 64, n. 2/3, p. 359-356, 1980.

DUNLAP, E. D.; SAMOLS, E.; WAITE, L. C.; PFEIFER, M. A. Development of a method to determine autonomic nervous system function in the rat. **Metabolism**, v. 36, n. 2, p. 193-197, 1987.

DUSTIN, P. 15 years of progress in the biological sciences. **Rev. Med. Brux.**, v. 5, n. 3, p. 115-119, 1984.

EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 107, n. 3, p. 385-393, 1953.

EUTAMENE, H.; THEODOROU, V.; FIORAMONTI, J.; BUENO, L. Rectal distention-induced colonic net water secretion in rats involves tachykinins, capsaicin sensory, and vagus nerves. **Gastroenterology**, v. 112, n. 5, p. 1595-1602, 1997.

EVANS, A. E. Vincristine in the treatment of children with acute leukemia. **Cancer Chemother. Rep.**, v. 52, n. 4, p. 469-471, 1968.

EVANS, A. E.; FARBER, S.; BRUNET, S.; MARIANO, P. J. Vincristine in the treatment of acute leukemia in children. **Cancer**, v. 16, p. 1302-1306, 1963.

FAVARO, G.; DI GREGORIO, F.; PANOZZO, C.; FIORI, M. G. Ganglioside treatment of vincristine-induced neuropathy. An electrophysiologic study. **Toxicology**, v. 49, n. 2/3, p. 325-329, 1988.

FINE, R. N.; CLARKE, R. R.; SHORE, N. A. Hyponatremia and vincristine therapy. Syndrome possibly resulting from inappropriate antidiuretic hormone secretion. **Am. J. Dis. Child**, v. 112, n. 3, p. 256-259, 1966.

GARDINER, S. M.; TOMLINSON, D. R.; BENNETT, T. The in vitro and in vivo effects of vinca alkaloids on the noradrenergic innervation of the vas deferens. **Med. Biol.**, v. 54, n. 3, p. 193-202, 1976.

GONDIM, F. A.; ALENCAR, H. M.; RODRIGUES, C. L.; DA GRAÇA, J. R.; DOS SANTOS, A. A.; ROLA, F. H. Complete cervical or thoracic spinal cord transections delay gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats. **Spinal Cord.**, v. 37, n. 11, p. 793-799, 1999.

GONDIM, F. A.; DA-GRAÇA, J. R.; DE-OLIVEIRA, G. R.; RÊGO, M. C.; GONDIM, R. B.; ROLA, F. H. Decreased gastric emptying and gastrointestinal and intestinal transits of liquid after complete spinal cord transection in awake rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 31, n. 12, p. 1605-1610, 1998.

GONDIM, F. A.; RODRIGUES, C. L.; DA GRAÇA, J. R.; CAMURÇA, F. D.; DE ALENCAR, H. M.; DOS SANTOS, A. A.; ROLA, F. H. Neural mechanisms involved in the delay of gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid after thoracic spinal cord transection in awake rats. **Auton. Neurosci.**, v. 87, n. 1, p. 52-58, 2001.

GOTTLIEB, R. J.; CUTTNER, J. Vincristine-induced bladder atony. **Cancer**, v. 28, n. 3, p. 674-675, 1971.

GOTTSCHALK, P. G.; DYCK, P. J.; KIELY, J. M. Vinca alkaloid neuropathy: nerve biopsy studies in rats and in man. **Neurology**, v. 18, n. 9, p. 875-882, 1968.

GREEN, L. S.; DONOSO, J. A.; HELLER-BETTINGER, I. E.; SAMSON, F. E. Axonal transport disturbances in vincristine-induced peripheral neuropathy. **Ann. Neurol.**, v. 1, n. 3, p. 255-262, 1977.

GUBISCH, N. J.; NORENA, D.; PERLIA, C. P.; TAYLOR, S. G. Experience with vincristine in solid tumors. **Cancer Chemother. Rep.**, v. 32, p. 19-22, 1963.

HAGGARD, M. E.; FERNBACH, D. J.; HOLCOMB, T. M.; SUTOW, W. W.; VIETTI, T. J.; WINDMILLER, J. Vincristine in acute leukemia of childhood. **Cancer**, v. 22, n. 2, p. 438-444, 1968.

HANCOCK, B. W.; NAYSMITH, A. Vincristine-induced autonomic neuropathy. **Br. Med. J.**, v. 3, n. 5977, p. 207, 1975.

HARRIS, A. C.; JACKSON, J. M. Lactulose in vincristine-induced constipation. **Med. J. Aust.**, v. 2, n. 17, p. 573-574, 1977.

HAYAKAWA, K.; SOBUE, G.; ITOH, T.; MITSUMA, T. Nerve growth factor prevents neurotoxic effects of cisplatin, vincristine and taxol, on adult rat sympathetic ganglion explants in vitro. **Life Sci.**, v. 55, n. 7, p. 519-525, 1994.

HEYN, R. M.; BEATTY, E. C.; HAMMOND, D.; LOUIS, J.; PIERCE, M.; MURPHY, M. L.; SEVERO, N. Vincristine in the treatment of acute leukemia in children. **Pediatrics**, v. 38, n. 1, p. 82-91, 1966.

HILDEBRAND, J.; COËRS, C. Clinical, histological and electrophysiologic study of neuropathies caused by vincristine treatment. **Eur. J. Cancer**, v. 1, n. 1, p. 51-58, 1965.

HIMES, R. H.; KERSEY, R. N.; HELLER-BETTINGER, I.; SAMSON, F. E. Action of the vinca alkaloids vincristine, vinblastine, and desacetyl vinblastine amide on microtubules in vitro. **Cancer Res.**, v. 36, n. 10, p. 3798-3802, 1976.

HIROKAWA, N. Mechanism of axonal transport. Identification of new molecular motors and regulations of transports. **Neurosci. Res.**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 1993.

HIROSE, Y.; TAKIGUCHI, T. Microtubule changes in hematologic malignant cells treated with paclitaxel and comparison with vincristine cytotoxicity. **Blood Cells Mol. Dis.**, v. 21, n. 2, p. 119-130, 1995.

HIRVONEN, H. E.; SALMI, T. T.; HEINONEN, E.; ANTILA, K. J.; VÄLIMÄKI, I. A. Vincristine treatment of acute lymphoblastic leukemia induces transient autonomic cardioneuropathy. **Cancer**, v. 64, n. 4, p. 801-805, 1989.

HOLLAND, J. F.; SCHARLAU, C.; GAILANI, S.; KRANT, M. J.; OLSON, K. B.; HORTON, J.; SHNIDER, B. I.; LYNCH, J. J.; OWENS, A.; CARBONE, P. P.; COLSKY, J.; GROB, D.; MILLER, S. P.; HALL, T. C. Vincristine treatment of

advanced cancer: a cooperative study of 392 cases. **Cancer Res.**, v. 33, n. 6, p. 1258-1264, 1973.

IKEHARA, O. Vincristine-induced paralytic ileus: role of fiberoptic colonoscopy and prostaglandin F2 alpha. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 87, n. 2, p. 207-210, 1992.

JACKSON, D. V.; WU, W. C.; SPURR, C. L. Treatment of vincristine-induced ileus with sincalide, a cholecystokinin analog. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 8, n. 1, p. 83-85, 1982.

JACKSON, D. V.; WELLS, H. B.; ATKINS, J. N.; ZEKAN, P. J.; WHITE, D. R.; RICHARDS, F.; CRUZ, J. M.; MUSS, H. B. Amelioration of vincristine neurotoxicity by glutamic acid. **Am. J. Med.**, v. 84, n. 6, p. 1016-1022, 1988.

JOCHIMSEN, P. R. Subacute vincristine toxicity following five consecutive daily doses. **Am. J. Clin. Oncol.**, v. 5, n. 4, p. 437-441, 1982.

JOHNSON, F. L.; BERNSTEIN, I. D.; HARTMANN, J. R.; CHARD, R. L. Seizures associated with vincristine sulfate therapy. **J. Pediatr.**, v. 82, n. 4, p. 699-702, 1973.

JOHNSON, I. S.; ARMSTRONG, J. G.; GORMAN, M.; BURNETT, J. P. The vinca alkaloids: a new class of oncolytic agents. **Cancer Res.**, v. 23, p. 1390-1427, 1963.

JOHNSON, I. S.; WAXOIRR, H. F.; SVOBODA, G. H. Experimental basis for clinical evaluation of anti-tumor principles derived from vinca rosea Linn. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 54, p. 880, 1959.

JOHNSTON, C. F.; SHAW, C.; BUCHANAN, K. D. Vincristine-induced abnormalities of gastrointestinal regulatory peptide cells of the rat. An immunocytochemical study. **Cell Tissue Res.**, v. 239, n. 1, p. 29-33, 1985.

JORDAN, M. A.; THROWER, D.; WILSON, L. Effects of vinblastine, podophyllotoxin and nocodazole on mitotic spindles. Implications for the role of microtubule dynamics in mitosis. **J. Cell Sci.**, v. 102, n. 3, p. 401-416, 1992.

KANEKO, H.; TOMOMASA, T.; WATANABE, T.; TAKAHASHI, A.; TABATA, M.; HUSSEIN, S.; MORIKAWA, A. Effect of vincristine on gastric motility in conscious rats. **Dig. Dis. Sci.**, v. 46, n. 5, p. 952-959, 2001.

KAPLAN, R. S.; WIERNIK, P. H. Neurotoxicity of antineoplastic drugs. **Semin. Oncol.**, v. 9, n. 1, p. 103-130, 1982.

KARON, M.; FREIREICH, E. J.; FREI, E. A preliminary report on vincristine sulfate – a new active agent for the treatment of acute leukemia. **Pediatrics**, v. 30, p. 791-796, 1962.

KAUFMAN, I. A.; KUNG, F. H.; KOENIG, H. M.; GIAMMONA, S. T. Overdosage with vincristine. **J. Pediatr.**, v. 89, n. 4, p. 671-674, 1976.

KLENER, P. Vinca alkaloids. Experimental and clinical trials. **Acta Univ. Carol. Med. Monogr.**, v. 58, p. 1-157, 1974.

KRARUP-HANSEN, A.; HELWEG-LARSEN, S.; SCHMALBRUCH, H.; RØRTH, M.; KRARUP, C. Neuronal involvement in cisplatin neuropathy: prospective clinical and neurophysiological studies. **Brain**, v. 130, n. 4, p. 1076-1088, 2007.

KRIZSAN-AGBAS, D.; BUÑAG, R. D. Normotensive diabetic BB/W rats show enhanced reflex tachycardia. **Diabetes**, v. 40, n. 11, p. 1504-1510, 1991.

LACHER, M. J.; GELLER, W. Cyclophosphamide and vinblastine sulfate in Hodgkin's disease during pregnancy. **JAMA**, v. 195, n. 6, p. 486-488, 1966.

LASSMAN, L. P.; PEARCE, G. W.; GANG, J. Sensitivity of intracranial gliomas to vincristine sulphate. **Lancet**, v. 1, p. 296-298, 1965.

LAURIE, N. A.; GRAY, J. K.; ZHANG, J.; LEGGAS, M.; RELLING, M.; EGORIN, M.; STEWART, C.; DYER, M. A. Topotecan combination chemotherapy in two new rodent models of retinoblastoma. **Clin. Cancer Res.**, v. 11, n. 20, p. 7569-7578, 2005.

LECLERCQ-MEYER, V. ; MARCHAND, J. ; MALAISSE, W. J. Possible role of a microtubular-microfilamentous system in glucagon secretion. **Diabetologia**, v. 10, n. 3, p. 215-224, 1974.

LEGHA, S. S. Vincristine neurotoxicity. Pathophysiology and management. **Med. Toxicol.**, v. 1, n. 6, p. 421-427, 1986.

LI, W. M.; SUZUKI, A. Reflex inhibition of heart rate and efferent cardiac sympathetic outflow induced by colorectal distension in anesthetized rats. **J. Physiol. Sci.**, v. 56, n. 2, p. 187-190, 2006.

LOBERT, S.; VULEVIC, B.; CORREIA, J. J. Interaction of vinca alkaloids with tubulin: a comparison of vinblastine, vincristine, and vinorelbine. **Biochemistry**, v. 35, n. 21, p. 6806-6814, 1996.

MACFARLANE, B. V.; WRIGHT, A.; BENSON, H. A. Reversible blockade of retrograde axonal transport in the rat sciatic nerve by vincristine. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 49, n. 1, p. 97-101, 1997.

MADOC-JONES, H.; MAURO, F. Interphase action of vinblastine and vincristine: differences in their lethal action through the mitotic cycle of cultured mammalian cells. **J. Cell Physiol.**, v. 72, n. 3, p. 185-196, 1968.

MAHAJAN, S. L.; IKEDA, Y.; MYERS, T. J.; BALDINI, M. G. Acute acoustic nerve palsy associated with vincristine therapy. **Cancer**, v. 47, n. 10, p. 2404-2406, 1981.

MCCARTHY, G. M.; SKILLINGS, J. R. Jaw and other orofacial pain in patients receiving vincristine for the treatment of cancer. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 74, n. 3, p. 299-304, 1992.

MCLEOD, J. G.; PENNY, R. Vincristine neuropathy: an electrophysiological and histological study. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 32, n. 4, p. 297-304, 1969.

MELO, M. L.; BRITO, G. A.; SOARES, R. C.; CARVALHO, S. B.; SILVA, J. V.; SOARES, P. M.; VALE, M. L.; SOUZA, M. H.; CUNHA, F. Q.; RIBEIRO, R. A. Role of cytokines (TNF-alpha, IL-1beta and KC) in the pathogenesis of CPT-11-induced intestinal mucositis in mice: effect of pentoxifylline and thalidomide. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 61, n. 5, p. 775-784, 2008.

MERIWETHER, W. D. Vincristine toxicity with hyponatremia and hypochloremia in an adult. **Oncology**, v. 25, n. 3, p. 234-238, 1971.

MITOLO-CHIEPPA, D.; APRILE, L.; GRASSO, G. Effects of vinblastine and vincristine on the innervated rat stomach. **Bull. Soc. Ital Biol. Sper.**, v. 52, n. 11, p. 806-811, 1976.

MORESS, G. R.; D'AGOSTINO, A. N.; JARCHO, L. W. Neuropathy in lymphoblastic leukemia treated with vincristine. **Arch. Neurol.**, v. 16, n. 4, p. 377-384, 1967.

NÉMETH, L.; SOMFAI, S.; GÁL, F.; KELLNER, B. Comparative studies concerning the tumour inhibition and the toxicology of vinblastine and vincristine. **Neoplasma**, v. 17, n. 4, p. 345-347, 1970.

NICHOLSON, R. G.; FELDMAN, W. Hyponatremia in association with vincristine therapy. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 106, n. 4, p. 356-357, 1972.

NOBLE, R. L.; BEER, C. T.; CUTTS, J. H. Role of chance observations in chemotherapy: Vinca rosea. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 76, n. 3, p. 882-894, 1958.

O'CALLAGHAN, J. P.; HOLTZMAN, S. G. Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 192, n. 3, p. 497-505, 1975.

OLDHAM, R. K.; POMEROY, T. C. Vincristine-induced syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. **South Med. J.**, v. 65, n. 8, p. 1010-1012, 1972.

OLMSTED, J. B.; BORISY, G. G. Characterization of microtubule assembly in porcine brain extracts by viscometry. **Biochemistry**, v. 12, n. 21, p. 4282-4289, 1973.

OWELLEN, R. J.; DONIGIAN, D. W. (3 H)Vincristine. Preparation and preliminary pharmacology. **J. Med. Chem.**, v. 15, n. 9, p. 894-898, 1972.

OWELLEN, R. J.; HARTKE, C. A.; DICKERSON, R. M.; HAINS, F. O. Inhibition of tubulin-microtubule polymerization by drugs of the Vinca alkaloid class. **Cancer Res.**, v. 36, n. 4, p. 1499-1502, 1976.

PANOFF, A. Pathogenesis of epileptiform seizures in acute leucosis in childhood. **Arch. Kinderheilkd.**, v. 183, n. 1, p. 62-68, 1971.

PECKOLT, T. Heil- und Nutzpflanzen Braziliens. **Ber. Deutsch Pharm. Ges.**, v. 20, p. 36-58, 1910.

PEIXOTO, A. A.; TELES, B. C. V.; GONDIM, F. A. A.; CASTRO, E. F. B.; SANTOS, A. A.; RIBEIRO, R. A. Alterações do esvaziamento gástrico associado a vincristina endovenosa em ratos acordados: um modelo experimental de neuropatia autonômica. *In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE)*, 12., 2006, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo: Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006. p. 51.

POISNER, A. M.; BERNSTEIN, J. A possible role of microtubules in catecholamine release from the adrenal medulla: effect of colchicine, vinca alkaloids and deuterium oxide. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 177, n. 1, p. 102-108, 1971.

POSNER, J. B. Neurological complications of systemic cancer. **Med. Clin. North Am.**, v. 55, n. 3, p. 625-646, 1971.

RACHMILEWITZ, D.; FOGEL, R.; KARMELI, F. Effect of colchicine and vinblastine on rat intestinal water transport and Na-K-ATPase activity. **Gut**, v. 19, n. 8, p. 759-764, 1978.

RAHMANI, R.; GUÉRITTE, F.; MARTIN, M.; JUST, S.; CANO, J. P.; BARBET, J. Comparative pharmacokinetics of antitumor Vinca alkaloids: intravenous bolus injections of navelbine and related alkaloids to cancer patients and rats. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 16, n. 3, p. 223-228, 1986.

REYNELL, P. C.; SPRAY, G. H. The simultaneous measurement of absorption and transit in the gastro-intestinal tract of the rat. **J. Physiol.**, v. 131, n. 2, p. 452-462, 1956.

ROBSON, S. J.; BURGOYNE, R. D. Differential localisation of tyrosinated, detyrosinated, and acetylated α -tubulins in neurites and growth cones of dorsal root ganglion neurons. **Cell Motil. Cytoskeleton**, v. 12, n. 4, p. 273-282, 1988.

ROCA, E.; BRUERA, E.; POLITI, P. M.; BARUGEL, M.; CEDARO, L.; CARRARO, S. *et al.* Vinca alkaloid-induced cardiovascular autonomic neuropathy. **Cancer Treat. Rep.**, v. 69, n. 2, p. 149-151, 1985.

ROSENBERG, R. F.; CARIDI, J. G. Vincristine-induced megacolon. **Gastrointest. Radiol.**, v. 8, n. 1, p. 71-73, 1983.

ROSENTHAL, S.; KAUFMAN, S. Vincristine neurotoxicity. **Ann. Intern. Med.**, v. 80, n. 6, p. 733-737, 1974.

ROSENZWEIG, A. I.; CREWS, Q. E.; HOPWOOD, H. G. Vinblastine sulfate in Hodgkin's disease in pregnancy. **Ann. Intern. Med.**, v. 61, p. 108-112, 1964.

SAHENK, Z.; BRADY, S. T.; MENDELL, J. R. Studies on the pathogenesis of vincristine-induced neuropathy. **Muscle Nerve**, v. 10, n. 1, p. 80-84, 1987.

SANDLER, S. G.; TOBIN, W.; HENDERSON, E. S. Vincristine-induced neuropathy. A clinical study of fifty leukemic patients. **Neurology**, v. 19, n. 4, p. 367-374, 1969.

SATO, A.; SATO, Y.; SHIMADA, F.; TORIGATA, Y. Changes in gastric motility produced by nociceptive stimulation of the skin in rats. **Brain Res.**, v. 87, n. 2/3, p. 151-159, 1975.

SAVEL, H.; KRIM, M. A direct method for chromosome analysis following clinical administration of vinblastine, vincristine, podophyllotoxin or colchicines. **Fed. Proc.**, v. 23, p. 279, 1964.

SCHARDEIN, J. L. Current status of drugs as teratogens in man. **Prog. Clin. Biol. Res.**, v. 163C, p. 181-190, 1985.

SCHAUMBURG, H. H. Vinca alkaloids. *In*: SPENCER, P. P.; SCHAUMBURG, H. H. (Ed.). **Experimental and clinical neurotoxicology**. 3rd. ed. New York: Oxford University Press, 2000. p. 1232-1236.

SCHLAEPFER, W. W. Vincristine-induced axonal alterations in rat peripheral nerve. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 30, n. 3, p. 488-505, 1971.

SCHMIDT, R. E.; DORSEY, D. A.; BEAUDET, L. N.; FREDERICK, K. E.; PARVIN, C. A.; PLURAD, S. B.; LEVISETTI, M. G. Non-obese diabetic mice rapidly develop dramatic sympathetic neuritic dystrophy: a new experimental model of diabetic autonomic neuropathy. **Am. J. Pathol.**, v. 163, n. 5, p. 2077-2091, 2003.

SCHMIDT, R. E.; PLURAD, S. B.; MODERT, C. W. Experimental diabetic autonomic neuropathy characterization in streptozotocin-diabetic Sprague-Dawley rats. **Lab. Invest.**, v. 49, n. 5, p. 538-552, 1983.

SCHOCHET, S. S.; LAMPERT, P. W.; EARLE, K. M. Neuronal changes induced by intrathecal vincristine sulfate. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 27, n. 4, p. 645-658, 1968.

SCHULMEISTER, L. Preventing vincristine sulfate medication errors. **Oncol. Nurs. Forum**, v. 31, n. 5, p. E90-8, 2004.

SELAWRY, O. S.; HANANIAN, J. Vincristine treatment of cancer in children. **JAMA**, v. 183, p. 741-746, 1963.

SERAFY, A.; HASHASH, M. The effect of vincristine on the neurological elements of the rabbit cochlea. **J. Laryngol. Otol.**, v. 95, n. 1, p. 49-53, 1981.

SHAH, J. H.; STEVENS, B.; SORENSEN, B. J. Dissociation of the effects of vincristine on stimulated insulin release and the pancreatic beta-cell microtubular structures in the intact rat. **Diabetes**, v. 30, n. 7, p. 539-544, 1981.

SHAH, J. H.; UDOMPHONKUL, N.; EDWARDS, G.; HURKS, C. The diphasic effect of vincristine on glucose-induced insulin secretion and glucose tolerance in the intact rat. **Endocrinology**, v. 105, n. 4, p. 1041-1047, 1979.

SHEETZ, M. P.; MARTENSON, C. H. Axonal transport: beyond kinesin and cytoplasmic dynein. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 1, n. 3, p. 393-398, 1991.

SHEETZ, M. P.; STEUER, E. R.; SCHROER, T. A. The mechanism and regulation of fast axonal transport. **Trends Neurosci.**, v. 12, n. 11, p. 474-478, 1989.

SHELANSKI, M. L.; WIŚNIEWSKI, H. Neurofibrillary degeneration induced by vincristine therapy. **Arch. Neurol.**, v. 20, n. 2, p. 199-206, 1969.

SHELANSKI, M. L.; WIŚNIEWSKI, H. Neurofibrillary degeneration induced by Vinca alkaloids: clinical and experimental. **Trans. Am. Neurol. Assoc.**, v. 93, p. 137-140, 1968.

SLATER, L. M.; WAINER, R. A.; SERPICK, A. A. Vincristine neurotoxicity with hyponatremia. **Cancer**, v. 23, n. 1, p. 122-125, 1969.

SLOTWINER, P.; SONG, S. K.; ANDERSON, P. J. Spheromembranous degeneration of muscle induced by vincristine. **Arch. Neurol.**, v. 15, n. 2, p. 172-176, 1966.

SMETS, L. A. Programmed cell death (apoptosis) and response to anti-cancer drugs. **Anticancer Drugs**, v. 5, n. 1, p. 3-9, 1994.

SMITH B. The myenteric plexus in drug-induced neuropathy. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 30, n. 6, p. 506-510, 1967.

SMITH, S. R.; THOMAS, D. B.; RICHES, A. C. Metaphase accumulation in tumour isografts following the administration of colcemid, vinblastine or vincristine. **J. Anat.**, v. 111, n. 3, p. 480, 1972.

SNINSKY, C. A. Vincristine alters myoelectric activity and transit of the small intestine in rats. **Gastroenterology**, v. 92, n. 2, p. 472-478, 1987.

SUSKIND, R. M.; BRUSILOW, S. W.; ZEHR, J. Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone produced by vincristine toxicity (with bioassay of ADH level). **J. Pediatr.**, v. 81, n. 1, p. 90-92, 1972.

SVOBODA, G. H.; JOHNSON, I. S.; GORMAN, M.; NEUSS, N. Current status or research on the alkaloids of *Vinca rosea* Linn. **J. Pharm. Sci.**, v. 51, p. 707-720, 1962.

SVOBODA, G. H.; NEUSS, N.; GORMAN, M. Alkaloids of *Vinca rosea* Linn. (*Catharanthus roseus* G. Don.). V. Preparation and characterization of alkaloids. **J. Am. Pharm. Assoc.**, v. 48, p. 659-666, 1959.

TANNER, K. D.; REICHLING, D. B.; LEVINE, J. D. Nociceptor hyper-responsiveness during vincristine-induced painful peripheral neuropathy in the rat. **J. Neurosci.**, v. 18, n. 16, p. 6480-6491, 1998.

TOBIN, W.; SANDLER, S. G. Neurophysiologic alterations induced by vincristine (NSC-67574). **Cancer Chemother. Rep.**, v. 52, n. 4, p. 519-526, 1968.

TODD, G. C.; GRIFFING, W. J.; GIBSON, W. R.; MORTON, D. M. Animal models for the comparative assessment of neurotoxicity following repeated administration of vinca alkaloids. **Cancer Treat. Rep.**, v. 63, n. 1, p. 35-41, 1979.

TOGHILL, P. J.; BURKE, J. D. Death from paralytic ileus following vincristine therapy. **Postgrad. Med. J.**, v. 46, n. 535, p. 330-331, 1970.

TOMOMASA, T.; MIYAZAWA, R.; KATO, M.; HOSHINO, M.; TABATA, M.; KANEKO, H. *et al.* Prolonged gastrointestinal dysmotility in a patient with hemophagocytic lymphohistiocytosis treated with vincristine. **Dig. Dis. Sci.**, v. 44, n. 9, p. 1755-1757, 1999.

UNIVERSIDADE DO PORTO. Faculdade de Farmácia. **Antineoplásicos: alcalóides da Vinca**. Porto, 2005-2006. Disponível em:<
<http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0506/alcvinca/alcvinca.htm>>. Acesso em: 25 maio 2009.

UY, Q. L.; MOEN, T. H.; JOHNS, R. J.; OWENS, A. H. Vincristine neurotoxicity in rodents. **Johns Hopkins Med. J.**, v. 121, n. 5, p. 349-360, 1967.

VERNINO, S.; ERMILOV, L. G.; SHA, L.; SZURSZEWSKI, J. H.; LOW, P. A.; LENNON, V. A. Passive transfer of autoimmune autonomic neuropathy to mice. **J. Neurosci.**, v. 24, n. 32, p. 7037-7042, 2004.

VERNINO, S. ; LOW, P. A. ; LENNON, V. A. Experimental autoimmune autonomic neuropathy. **J. Neurophysiol.**, v. 90, n. 3, p. 2053-2059, 2003.

VERSTAPPEN, C. C. ; KOEPPEN, S. ; HEIMANS, J. J. ; HUIJGENS, P. C. ; SCHEULEN, M. E. ; STRUMBERG, D. ; KIBURG, B. ; POSTMA, T. J. Dose-related vincristine-induced peripheral neuropathy with unexpected off-therapy worsening. **Neurology**, v. 64, n. 6, p. 1076-1077, 2005.

WALL, P.; MELZACK, R. **Textbook of pain**. New York: Chrchill Livingstone, 1989.

WEISS, H. D.; WALKER, M. D.; WIERNIK, P. H. Neurotoxicity of commonly used antineoplastic agents. **N. Engl. J. Med.**, v. 291, p. 127-133, 1974.

WHITELAW, D. M.; COWAN, D. H.; CASSIDY, F. R.; PATTERSON, T. A. Clinical experience with vincristine. **Cancer Chemother. Rep.**, v. 30, p. 13-20, 1963.

WINDMILLER, J.; BERRY, D. H.; HADDY, T. B.; VIETTI, T. J.; SUTOW, W. W. Vincristine sulfate in the treatment of neuroblastoma in children. **Am. J. Dis. Child**, v. 111, n. 1, p. 75-78, 1966.

WIŚNIEWSKI, H.; TERRY, R. D.; HIRANO, A. Neurofibrillary pathology. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 29, n. 2, p. 163-176, 1970.

ZELLER, W. J.; BERGER, M.; SCHMÄHL, D. Synergistic action of vincristine and adriamycin in the treatment of experimental rat leukemia L5222. **Cancer Res.**, v. 39, n. 3, p. 1071-1073, 1979.

ZHOU, X. J.; RAHMANI, R. Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids. **Drugs**, v. 44, Suppl. 4, p. 1-16, 1992.

ANEXOS



Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366-8331 Fax (85) 3366-8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº 109/07, sobre o projeto intitulado: **“DESCRIÇÃO DE UM NOVO MODELO DE DISAUTONOMIA GASTRINTESTINAL INDUZIDA POR TRATAMENTO COM VINCRISTINA INTRAVENOSA EM RATOS ACORDADOS”** de responsabilidade de Arnaldo Aires Peixoto Junior está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal CEPA em reunião realizada em 07 de novembro de 2007.

Fortaleza, 18 de janeiro de 2008


Profa. Dra. Geanne Matos de Andrade Cunha
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal - CEPA

XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental

XXXI Congresso Brasileiro de Biofísica
XXI Congresso Brasileiro de Investigação Clínica
XXX Congresso Brasileiro de Neurociências e Comportamento

Participação

Brazilian Research Association in Vision and Ophthalmology (BRAVO)
Sociedade Brasileira de Biologia Celular (SBBC)
Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares (SBBN)
Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq)
Departamento de Endocrinologia Básica da Sociedade Brasileira de
Endocrinologia e Metabologia (SBEM)
Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental (SBFTE)
Sociedade Brasileira de Fisiologia (SBFis)
Sociedade Brasileira de Imunologia (SBI)
Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)

PROGRAMA

23 de agosto a 26 de agosto | Águas de Lindóia | SP | Brasil

FESBE 2006

Sexta-feira, 25 de agosto

- Por que patentear?
Regina Scivoletto (UNIEMP)
- O que e como patentear?
Rosana Bernardo (INPI)
- Relato de caso: A experiência de um pesquisador.
Kleber Franchini (UNICAMP)
- Relato de caso: A experiência de um empresário nacional.
Ogari de Castro Pacheco (Laboratório Cristália)

Sala 01

SBFis, SBBf, SBBq, SBFTE, SBIC, SBEM, SBBC, SBBN

MALE REPRODUCTIVE SYSTEM

Coordenador: Fátima Regina Mena Barreto Silva (UFSC)

- Estrogens and male reproduction
Serge R. Carreau (CNRS, França)
- Hormonal regulation of Sertoli cell proliferation and differentiation
Luiz Renato França (UFMG)
- P2X2 receptors and calcium entry in Leydig cells
Wamberto A. Varanda (USP-RP)
- Thyroid Hormones and testis
Fátima Regina Mena Barreto Silva (UFSC)

Sala 2

SBBf, SBFTE, SBIC, SBFis

RESISTENCIA A MÚLTIPLAS DROGAS.

Coordenador: Márcia Alves Marques Capella (UFRJ)

- CP: *Resistência a múltiplas drogas nas neoplasias*
Raquel Ciuvalschi Maia (INCA)
- MC: *Aspectos Fisiológicos da Expressão de Proteínas MDR no Sistema Imune*
Juliana Echevarria Lima (FIOCRUZ)
- MC: *Aspectos Fisiológicos da expressão de proteínas MDR no rim e endotélio.*
Luiz Sabbatini Capella (UERJ)
- CO: *Efeito dos inibidores da *pgp* e da *mrp1* na resistência a hidrocortison.* ¹ Oliveira, A. S. ² Echevarria-Lima, J.; ³ Vivian Rumjanek; ¹ Bioquímica Médica - ICB, UFRJ; ² Virologia, FIOCRUZ; ³ Bioquímica - CCS, UFRJ
- *Betulinic acid is a cytotoxic drug against *mdr* cells expressing both *P-GP* and *MRP1*.* ¹ Delou, J. M. A. ² Capella, M.A.; ³ Gattass, C. R.; ¹ ICB, UFRJ; ² IBCCF, UFRJ; ³ Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ
- *Regulation of the drug transporter *ABCB1* by atorvastatin in a human hepatoma cell line.* ¹ Rodrigues, A. C. ² Curi, R.; ³ Britto, L. R. G.; ⁴ Rebecchi, I. M. M.; ⁵ Hirata, M. H.; ⁶ Hirata, R. D. C.; ^{1, 4, 5, 6} Análises Clínicas e Toxicológicas, FCF - USP; ^{2, 3} Fisiologia e Biofísica - ICB I, USP

Sala 03

SBNeC, SBFis, SBIC, SBFTE

NEUROGASTROENTEROLOGY: FRONTIERS IN THE NEUROBIOLOGY OF PERIPHERAL AND CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS.

Coordenador: Francisco de Assis Aquino Gondim (UFC)

- CP: *Neurological manifestations of celiac disease*
Norman Latov (Cornell University, EUA)
- MC: *Neurological manifestations of inflammatory bowel disease*
Francisco de Assis Aquino Gondim (UFC)
- MC: *Gastrointestinal and Autonomic Disorders associated with neurological diseases.*
Miguel Ângelo Nobre e Souza (UFC)
- CO: *Complicações neurológicas em pacientes com doença inflamatória intestinal (DII).* ¹ Oliveira, G. R. ² Gondim, F. A. A.; ³ Teles, B.C.V. ⁴ Castro, E.F.B.; ⁵ Souza, M.H.L.P.; ^{1, 2, 3, 4, 5} Fisiologia e Farmacologia - DFF, UFC
- *Alteração do esvaziamento gástrico associado a vincristina na endovenosa em ratos acordados - um modelo experi-*

mental de neuropatia autonômica. ¹ Peixoto Jr, A. A. ² Teles, B.C.V. ³ Gondim, F. A. A.; ⁴ Castro, E.F.B. ⁵ Santos, A. A.; ⁶ Ribeiro, R.A.; ^{1, 2, 3, 4, 6} Fisiologia e Farmacologia - DFF, UFC; ⁵ Fisiologia e Farmacologia, UFC

- *Prevalence of celiac disease among blood donors in Sao Paulo City.* ¹ Alencar, M. L. ² Gastroenterologia Clínica - FM, USP

- *Alterações da cadeia respiratória mitocondrial em intestino de ratos submetidos ao modelo animal de colite ulcerativa.* ¹ Stoffel, C. ² Benetton, C. A. F. ³ Damiani, C.R. ⁴ Dal-Pizzol, F.; ⁵ Streck, E. L.; ^{1, 2, 3, 4} Medicina, UNESC; ⁵ Farmácia, UNESC

Sala 4

SBEM, SBFis, SBIC, SBBf, SBBN, SBFTE, SBBC

NOVOS ENFOQUES SOBRE REGULAÇÃO HORMONAL DA EXPRESSÃO GÊNICA E INTERAÇÕES HORMONAIS: POTENCIAIS APLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO E TERAPEUTICA.

Coordenador: Maria Tereza Nunes (USP)

- CP: *Genes regulados por estrógenos e triiodotironina no câncer da mama.*

Célia Regina Nogueira (UNESP-Botucatu)

- MC: *Receptores de hormônio tireoideano e seu papel na regulação da expressão gênica.*

Tânia M. Ortega-Carvalho (UFRJ)

- CO: *Involvement of ionic channels and kinase activity on the stimulatory action of thyroxine on *45ca2+* uptake in rat testis.* ¹ Royer, C. ² Zamoner, A. ³ Rosso, A. ⁴ Barreto, K.P.; ⁵ Woehl, V. M.; ⁶ Silva, F. R. M. B.; ^{1, 3, 6} Bioquímica - CCB, UFSC; ² Bioquímica, UFRGS; ⁴ Fisiologia, UFSM; ⁵ Ciências Morfológicas, UFSC

- *Efeito do hormônio tireoideano e do tireomimético GC-24 na expressão de genes envolvidos na proteólise muscular.* ¹ Vilas Boas, V. F. ² Kizys, M. M. L. ³ Scanlan TS; ⁴ Moriscot, A.S.; ^{1, 2, 4} Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas - USP; ³ Pharmacology, University of Califórnia

- *Efeitos dos fitoestrógenos *trifolium pratense* e *cimicifuga racemosa* sobre a função tireoideana de ratos *wistar ovariectomizadas*.* ¹ Silva, A. C. M. ² Lourenço, A. L. ³ Marassi, M. P. ⁴ Lima, L. P. ⁵ Sollero, T.; ⁶ Ferreira, A. C. F.; ⁷ Carvalho, D. P.; ¹ Biofísica e Fisiologia, UFRJ; ^{2, 5} Farmacologia Básica e Clínica ICB BLJ, UFRJ; ^{3, 6, 7} Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ; ⁴ IBCCF, UFRJ

Sala 5

SBBC

ADVANCES IN CANCER RESEARCH.

Coordenador: Marinilce Fagundes dos Santos (USP-SP)

Painéis selecionados durante o último São Paulo Research Conference: Câncer (novembro 2005)

- *Loss of ADAM23, a putative new metastasis suppressor gene, leads to enhanced adhesion and migration of the MDA-MB-435 breast cancer cell line by modulating the v3 integrin activation.*

Newton Verbisck¹, Muras, A.G.^{1,2}, RP Moura¹, FF Costa¹, FHM de Melo², SM Zanata⁴, MC Sogayar³, R Chammas² and AA Camargo¹ ¹Laboratory of Molecular Biology and Genomics, Ludwig Institute for Cancer Research, Sao Paulo ²Laboratory of Experimental Oncology, University of Sao Paulo Faculty of Medicine, ³Chemistry Institute, University of São Paulo, ⁴Laboratory of Neurobiology, Federal University of Parana, Parana, Brazil

- *Cell cycle regulation by NFAT1 transcription factor.* Lílian D.S.Carvalho; Teixeira, L. K.; Bastos, N. C.; Caldeira, A. T. N.; Viola, J. P. B. Instituto Nacional do Câncer.
- *Proliferation, differentiation and apoptosis: involvement of cellular prion protein.*

ALTERAÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO ASSOCIADO A VINCRISTINA ENDOVENOSA EM RATOS ACORDADOS - UM MODELO EXPERIMENTAL DE NEUROPATIA AUTÔNOMICA.

¹Peixoto Jr, A. A. ^{**}; ²Teles, B.C.V. ^{*}; ³Gondim, F. A. A. ; ⁴Castro, E.F.B. ^{*}; ⁵Santos, A. A. ; ⁶Ribeiro, R.A. ; ^{1, 2, 3, 4, 6} Fisiologia e Farmacologia - DFF, UFC; ⁵Fisiologia e Farmacologia, UFC;

Objetivo:

Vincristina é um antineoplásico com ação sobre neoplasias hematológicas e tumores sólidos. Seu uso é limitado pela neurotoxicidade, resultando em alteração da motilidade intestinal, constipação, neuropatia periférica sensitiva e motora. Com o objetivo de descrever um modelo experimental com ratos para neuropatia autonômica induzida por vincristina, estudamos o esvaziamento gástrico, trânsito gastrointestinal de líquidos após doses cumulativas de vincristina endovenosa.

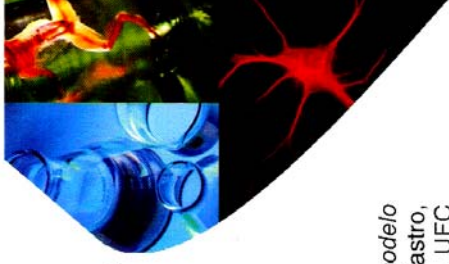
Métodos e Resultados:

Utilizamos ratos Wistar machos com peso de 200-250g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água ad libitum. Sulfato de vincristina (Zodiac®) na concentração de 1mg/ml foi diluída em salina em concentrações de 15µg/ml, 30µg/ml e 45µg/ml. Vincristina foi administrada i.v. na veia da cauda em doses de 50µg/Kg, 100µg/Kg e 150µg/Kg a cada 2 dias. Sete grupos de ratos experimentais receberam: 5 doses de 50µg/Kg (dose cumulativa de 250µg/Kg); 2, 3 e 4 doses de 100µg/Kg (doses cumulativas de 200µg/Kg, 300µg/Kg e 400µg/Kg respectivamente) e 1, 2 e 5 doses de 150µg/Kg (doses cumulativas de 150µg/Kg, 300µg/Kg e 750µg/Kg). Grupos controles receberam volume de salina de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência de volume. Grupos experimentais e controles foram constituídos de 5-10 ratos. Toxicidade da droga foi avaliada pela perda de peso, fraqueza motora, alopecia, diarreia e morte do animal. O estudo do esvaziamento gástrico e trânsito de líquido gastrointestinal foi realizado após gavagem de 1,5ml de alimentação teste (vermelho fenol em solução glicosada 5%, 0,5 mg/ml) e sacrifício do animal após 10 minutos. Retenção do corante no estômago, intestino delgado proximal, medial e distal foi obtida através de espectrofotometria. Os dados foram avaliados através de ANOVA seguido pelo teste t-Student. Encontramos retenção gástrica após aplicação de 5 doses de 50µg/Kg (76,9±7,4%), 2 e 5 doses de 150 µg/Kg (81,4±3,5% e 72,0±8,3%) quando comparado com animais que receberam 2 e 5 doses de salina (48,6±5,4% e 55,7±8,5% respectivamente), com p < 0,05. Ratos que receberam 2, 3 e 4 doses de 100 µg/Kg e 1 dose de 150 µg/Kg apresentaram tendência a retenção quando comparado aos ratos que receberam salina, porém sem significância estatística.

Conclusões:

Os resultados sugerem que a neuropatia autonômica associada à vincristina em ratos, quando avaliada através do esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal de líquidos relaciona-se não somente a dose cumulativa, como também com o tempo de exposição à droga.

XXI Reunião Anual da



Certificamos que:

o trabalho *Alteração do esvaziamento gástrico associado a vincristina endovenosa em ratos acordados - um modelo experimental de neuropatia autonômica*, de autoria de ¹ Peixoto Jr, A. A. ; ² Teles, B.C.V. ; ³ Gondim, F. A. A. ; ⁴ Castro, E.F.B. ; ⁵ Santos, A. A. ; ⁶ Ribeiro, R.A. ; ^{1,2,3,4,5,6} Fisiologia e Farmacologia - DFF, UFC; ⁵ Fisiologia e Farmacologia, UFC foi apresentado sob a forma de Comunicação Oral no Módulo Temático NEUROGASTROENTEROLOGY: FRONTIERS IN THE NEUROBIOLOGY OF PERIPHERAL AND CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS na

**XXI Reunião Anual da
Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FeSBE, realizada
na cidade de Águas de Lindóia - São Paulo, de 23 a 26 de agosto de 2006**

Genivaldo Malucé

Comissão Organizadora

2006

Programa

II Reunião Regional da FESBE
Federação de Sociedades de Biologia Experimental

Local:
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Auditório do Centro de Ciências Biológicas e Centro de Ciências do Saúde
Av. Prof. Moraes Brasil s/nº
Estado Universitário, Recife - PE
CEP: 50875-901

de 01/06 a 03/06 2007

Agradecimentos

Camundongos. ¹Sousa, D. I. M.; ²Campos, D. A.; ³Calou, I. B. F.; ⁴Carvalho, A. C. S.; ⁵Lima, A. F.; ⁶Rao, V. S. N.; ⁷Pessoa, O. D. L.; ⁸Lima, A. F.; ⁹Santos, F. A.; ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9}Fisiologia e Farmacologia, UFC; ¹⁰Química Orgânica e Inorgânica, UFC

CO: Ioinbina Relaxa Corpo Caveroso Humano de Modo Adrenérgico-dependente e Independente. ¹Cunha, K. M. A.; ²Freitas, F. C. M.; ³Silva, L. F. G.; ⁴Fonteles, M. C.; ⁵Sousa, C. M.; ⁶Arnaud-Batista, F. J.; ⁷Oliveira, H. C. S.; ⁸Santos, C. F.; ⁹Nascimento, N. R. F.; ^{1, 4, 5, 6, 7, 8}Instituto Superior de Ciências Biomédicas, UECE; ²Departamento de Cirurgia, UFC.

Anfiteatro 12 - CCB

Lectinas: Purificação e Aplicações.
Coordenador: Luana Cassandra B. B. Coelho – UFPE
MC: Lectinas de Plantas: Diversidade Estrutural e Potencial Biotecnológico.
Patricia Maria Guedes Paiva – UFPE
CO: Aplicação de Lectinas Como Biomateriais em Cicatrização Cutânea.
Ana Maria dos Anjos Carneiro Leão – UFRPE
MC: Controle de Expressão e Funções de Galectina-3.
Roger Chammass – USP
CO: Isolation of a Coagulant Lectin from *Moringa oleifera* Seeds.
¹Santos, A. F. S.; ²Luz, L. A.; ³Argolo, A. C. C.; ⁴Nogueira, R. M. O. B.; ⁵Paiva, P. M. G.; ⁶Coelho, L. C. B. B.; ^{1, 2, 3, 5, 6}Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco; ⁴Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho.
CO: *Crotalaria mollis* Seed Lectin (*Cramol 1.4*) Induced Apoptosis in *Lncap* and *Walker Tumor Cells*. ¹Araújo, F. F. B.; ¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco.

Anfiteatro 13 - CCB

Modulação do Transporte através das Membranas.
Coordenador: Oleg V. Krasilnikov – UFPE
MC: Nuclear Pores Increase Their Ion Channel Activity During Blockade of Their Macromolecular Transport.
José Omar Bustamante – UFS
MC: Importância da Eletrofisiologia Celular no Estudo do Efeito de Compostos Bioativos sobre os Canais Iônicos.
Demetrius A. M. Araújo – UFPE
MC: A Ca²⁺-ATPase de Túbulos Proximais Renais é Ativada por Ceramida via Proteína Cinase A.
Marcelo Einicker Lamas – UFRJ
MC: Poros Induzidos em Bicamadas Lipídicas: Fontes, Propriedades e Aplicações.
Oleg V. Krasilnikov – UFPE
CO: A Determinação da Massa Molecular e Pureza de Amostras de Polímeros Homólogos com o Nanoporo Protético Unitário.
¹Rodrigues, C. G.; ²Chevtchenko, S.F.; ³Machado, D.C.; ⁴Krasilnikov, O.V.; ^{1, 2, 3, 4}Biofísica e Radiobiologia, UFPE
CO: Inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase in the Presence of Crown Ethers: Modulation of Ionic Composition or Pharmacological Effects.
¹Yudashcheva, L.; ²Carvalho, A. C.; ³Krasilnikov, O. V.; ^{1, 2, 3}Departamento de Biofísica e Radiobiologia, UFPE.

PAINÉIS – 16h40 às 19h40
Hall do CCS

Domingo, 3 de junho de 2007

CONFERÊNCIA – 09h00 às 10h00

Auditório 1 - CCS

Calcium Channels, Transmitter Release and Channelopathies.
Conferencista: Osvaldo Uchitel - Universidad de Buenos Aires
Apresentador: Rubem C. A. Guedes - UFPE

MÓDULOS TEMÁTICOS E SIMPÓSIOS – 10h20 às 12h20

Anfiteatro 10 - CCB

Neurobiologia: Aspectos Morfo-Fisiológicos, Comportamentais e Farmacológicos.
Coordenador: Rubem C. A. Guedes - UFPE
• Avaliação Estereológica e Reconstrução Tri-Dimensional no Sistema Nervoso Normal e Alterado.
Cristovam Wanderley Picanço-Diniz – UFPA
• Consolidação de Memórias em Aves e Mamíferos: Estudos Moleculares e Eletrofisiológicos.
Sidarta Ribeiro – INNN/UFRR
• Interações Celulares no Sistema Nervoso.
Vivaldo Moura Neto – UFRJ
• Arousal Mechanisms in Motivated Behaviors.
Fernando Torrealba - Universidad Católica de Chile, Chile
• Sex Differences in Psychopharmacology.
Alonso Fernandez-Guasti - Centro de Investigación y Estudios Avanzados, México

Anfiteatro 12 - CCB** (ver página 6)

Neurogastroenterologia
Coordenador: Arménio Aguiar dos Santos – UFC
MC: Pode o Trato Gastrointestinal Participar da Regulação Aguda do Volume do Líquido Extracelular?
Arménio Aguiar dos Santos – UFC
MC: Funcionamento Normal e Anormal dos Nervos Periféricos e Seus Mecanismos de Injúria.
Francisco de Assis de Aquino Gondim – UFC
CO: Modificação do Esvaziamento Gástrico Relacionado a Vincristina Endovenosa em Ratos Acordados. ¹Teles, B. C. V.; ²Brasil, E. F.; ³Peixoto Junior, A. A.; ⁴Aquino, P. S.; ⁵Albuquerque, R. R.; ⁶Santos, A. A.; ⁷Gondim, F. A. A.; ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7}Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC.
CO: A Inibição do Esvaziamento Gástrico de Líquido pela Distensão Mecânica Atrial em Ratos Acordados Envolve Mediação Neuro-autônômica? ¹Junior, R. C. P.; ²Carvalho, F.M.; ³Silva, M.T.B.; ⁴Barbosa, H.L.G.; ⁵Martins, T.A.; ⁶Medeiros, B.B.L.; ⁷Rola, F.H.; ⁸Santos, A.A.; ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}Dep de Fisiologia e Farmacologia, UFC.
CO: A Sobrecarga Cardíaca Aguda Advinda de Fistula Aortocaval Inibe o Esvaziamento Gástrico de Líquidos em Ratos Acordados. *Silva, M.T.B.*, *Martins, T.A.*, *Barbosa, H.L.S.*, *Palheta Jr, R.C.*, *Gomes, T.N.F.*, *Santos, A.A.* Dep. Fisiologia e Farmacologia – UFC.

Anfiteatro 13 - CCB

Esquistossomose Mansoni.
Coordenador: Carlos Teixeira Brandt – UFPE
• Esquistossomose Cirúrgica na Infância e Adolescência.
Carlos Teixeira Brandt – UFPE
• Aspectos Ultra-sonográficos da Fibrose Peripotal em Portadores de Esquistossomose Hepatoesplênica.
Ana Lúcia Coutinho Domingues – UFPE
• Imunologia e Genética da Resposta Imune na Susceptibilidade a Doenças Infecciosas.
Virmondes Rodrigues Junior - UFTM

Anfiteatro 14 - CCB*** (ver página 6)

Fisiologia Comparada.
Coordenador: Carlos Peres da Costa – UFPE
• Adaptação Animal aos Radicais Livres: Vivendo na Corda Bamba.
Marcelo Hemes-Lima - UnB
• Sísbio no IBAMA: Tipos de Acesso para o Pesquisador.
Marisol Pessanha - UFPE
• Fisiologia Cardio-Respiratória Comparada.
Francisco Tadeu Rantin – UFSCar

Cursos – 13h20 às 14h20

Auditório 2 - CCS

Cuidados com Animais de Experimentação. Delineamento Experimental.
Coordenador: Sílvia C. Barreto C. Ortiz - USP
• 3ª aula: Delineamento de Grupos de Animais em Protocolos Experimentais.
Sílvia C. Barreto C. Ortiz - USP

Auditório 1 - CCB

Como Escrever um Trabalho Científico.
Coordenador: Walter Araújo Zin – UFRJ e Dalton Valentim Vassallo – UFES
• 3ª aula: Elaboração de Projeto de Pesquisa.
Dalton Valentim Vassallo – UFES

Anfiteatro 12 - CCB

Terapia gênica.
Coordenador: Marcelo M. Moraes – UFRJ
• 3ª aula: Vetores Virais e Não Virais
Hilda Petrs Silva – UFRJ

Anfiteatro 13 - CCB

Microscopia Confocal.
Coordenador: Regina Célia Bressan Queiroz de Figueredo – FIOCRUZ



01.008 - Fisiologia em órgãos e sistemas, Fisiopatologia

MODIFICAÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO RELACIONADO A VINCRISTINA ENDOVENOSA EM RATOS ACORDADOS. ¹Teles, B. C. V.; ²Brasil, E. F.; ³Peixoto Junior, A. A.; ⁴Aquino, P. S.; ⁵Albuquerque, R. R.; ⁶Santos, A. A.; ⁷Gondim, F. A. A.; ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7}Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC;

Objetivo:

A vincristina é um quimioterápico usado no tratamento de neoplasias hematológicas e de tumores sólidos, sendo seu uso limitado devido neurotoxicidade e alterações na motilidade intestinal, podendo resultar em neuropatia sensitiva e motora, constipação intestinal e íleo parálítico. A pretensão deste trabalho constitui em descrever as alterações no esvaziamento gástrico (EG) de líquidos em ratos saudáveis submetidos a administração endovenosa de vincristina.

Métodos e Resultados:

Utilizamos ratos Wistar machos (n=37), com peso de 180 a 240g, submetidos a tratamento com 5 doses de sulfato de vincristina (Zodiac®) endovenosa nas doses 50, 100 e 150µg/Kg a cada dois dias. Quatro grupos de ratos experimentais receberam: 5 doses de 50µg/Kg (dose cumulativa de 250µg/Kg); 5 doses de 100µg/Kg (doses cumulativas de 500µg/Kg); 5 doses de 150µg/Kg (doses cumulativas de 750µg/Kg) e 5 doses de 150µg/Kg seguido de tratamento com guanetidina intraperitoneal (10mg/Kg) 50 minutos antes da gavagem. Grupos controles receberam volume de salina de acordo com o peso dos ratos, mantendo a equivalência de volume. Grupos experimentais e controles foram constituídos de 5-10 ratos. Toxicidade da droga foi avaliada pela perda de peso, fraqueza motora, alopecia, diarreia e morte do animal. Neuropatia sensitiva foi avaliada através do tempo de latência no teste da placa quente (52°C). O estudo do esvaziamento gástrico e trânsito de líquido gastrointestinal foram realizados após gavagem de 1,5ml de alimentação teste (vermelho fenol em solução glicosada 5%, 0,5 mg/ml) e sacrifício do animal após 10 minutos. Retenção fracional do corante no estômago, intestino delgado proximal, medial e distal foi obtida através de espectrofotometria. Os dados foram expressos em média±EPM e avaliados através do teste t-Student. Encontramos retenção gástrica após 5 doses de 150µg/Kg (67,5±2,39%), quando comparado ao grupo salina (57,9±2,59%) (p<0,05), diferente de animais tratados com 5 doses de 50µg/Kg (63,9± 3,08%) e 100µg/Kg (62,2± 3,70%) nos quais não foi observado este efeito (p>0,05). A retenção gástrica de corantes após tratamento com 5 doses de vincristina 150µg/Kg não foi revertida com bloqueio simpático pela guanetidina (71,7±10,17% vs. 41,1± 4,56%) (p<0,05). Grupos de animais tratados com vincristina 50µg/Kg e 100µg/Kg manifestaram hiperalgesia após 5ª dose, enquanto animais que receberam 150µg/Kg tiveram redução significativa do tempo de latência na placa quente após 3ª dose de vincristina.

Conclusões:

A vincristina reduziu o esvaziamento gástrico em ratos tratados com 5 doses de 150µg/Kg, não sendo este efeito revertido pelo bloqueio simpático com guanetidina. A neuropatia sensitiva foi induzida com doses mais baixas de vincristina 50µg/Kg e 100µg/Kg.

Data de Apresentação: 01/06/2007

II Reunião Regional da

FeSBE

Federação de Sociedades de
Biologia Experimental



CERTIFICADO

Certificamos que o resumo MODIFICAÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO RELACIONADO A VINCRITISTINA ENDOVENOSA EM RATOS ACORDADOS, de autoria ¹Teles, B. C. V.; ²Brasil, E. F.; ³Peixoto Junior, A. A.; ⁴Aquino, P. S.; ⁵Albuquerque, R. R.; ⁶Santos, A. A.; ⁷Gondim, F. A. A.; ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7}Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC foi apresentado sob a forma de Comunicação Oral no Módulo Temático NEUROGASTROENTEROLOGIA, coordenado pelo Dr. Armênio Aguiar dos Santos na

II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE,
realizada na cidade de Recife - Pernambuco - PE, de 01 a 03 de junho de 2007.

Gerhara Malve

COMISSÃO ORGANIZADORA

2007



FeSBE 2008

III Reunião Regional

29 de maio a 01 de junho de 2008

32.006 - EVOLUÇÃO CLÍNICA DE NEUROPATIA AUTONÔMICA E SOMÁTICA INDUZIDA POR ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA CRÔNICA DE VINCRISTINA EM RATOS ACORDADOS: EVIDÊNCIAS GASTROINTESTINAIS E SENSITIVAS ¹Júnior, S. S. A. da S.; ²Teles, B. C. V. ; ³Aquino, P. de S. ; ⁴Costa, A. M. C. ; ⁵Pinho, L. G. ; ⁶Junior, A. A. P. ; ⁷Gondim, F. de A. A. ; ^{2,4}Departamento de Fisiologia e Farmacologia, FM - UFC.

Objetivos:

Descrever modificações quantitativas da motilidade gastrointestinal secundárias à administração crônica de vincristina em ratos.

Métodos e resultados:

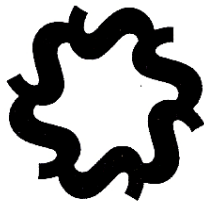
Soluções de vincristina (50µg/Kg, 100µg/Kg e 150µg/Kg) foram aplicadas i.v. em ratos Wistar, adultos, machos (n=100, 200 – 250g) em 4 protocolos. Um dia depois da última dose, os animais foram gavados com uma refeição-teste de vermelho fenol e sacrificados após 10 minutos da gavagem. A recuperação do corante em segmentos digestivos foi determinada por espectrofotometria. Utilizou-se placa quente (T=52°C) para avaliar alterações nociceptivas. Constatou-se que a administração crônica de 5 altas doses (150 g/kg) retardam o esvaziamento gástrico (p<0,05). O achado esteve igualmente presente um dia após tratamento com 2 doses (150 g/kg), mas não após uma única dose de 150 g/kg (p<0,05). Vincristina (150 g/kg) diminui imediatamente a eliminação fecal (p<0,05). Tratamento com 2 doses de vincristina (150 g/kg) e 5 doses de vincristina (100 ou 150 g/kg) aumentam o peso colônico (p<0,05). Vincristina reduz a latência de retirada após a 5ª dose de 50 g/kg e 100 g/kg (p<0,05). O efeito da vincristina no esvaziamento gástrico não esteve presente em ratos tratados com 5 doses de vincristina (150 g/kg), uma e duas semanas após a última dose (p<0,05). O decréscimo da latência de retirada cessa em até 2 semanas, após 5 doses de 150 g/kg (p<0,05).

Conclusões:

As principais perturbações motoras gastrointestinais para líquidos após experimentação de vincristina em ratos foram maior retenção gástrica de corante, redução da eliminação fecal e aumento do peso colônico. Alterações nocicepticas térmicas precedem as alterações autonômicas e ultrapassam a sua duração.

Apoio Financeiro:

CNPq



III Reunião Regional FeSBE 2008

29 de maio a 01 de junho de 2008
Fortaleza – Ceará

CERTIFICADO

Certificamos que

O trabalho número: 11.001 intitulado O TRATAMENTO CRÔNICO COM VINCRISTINA PROMOVE ALTERAÇÕES REFLEXAS NAS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES EM RATOS ACORDADOS
¹Teles, B. C. V. ; ²Junior, A. A. P. ; ³Silva, M. T. B. da ; ⁴Santos, A. A. dos ; ⁵Gondim, F. de A. A. ; ¹Depto de Fisiologia e Farmacologia, FM - UFC. foi apresentado sob a forma de painel na

III Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada na cidade de Fortaleza - Ceará - CE, de 29 de maio a 01 de junho de 2008.

Comissão Organizadora





American Academy of Neurology

January 22, 2008

American Academy of Neurology
Professional Association

1080 Montreal Avenue
St. Paul, Minnesota 55116
Tel: (651) 685-1940
Fax: (651) 685-2791
www.aan.com

Arnaldo Peixoto Junior, M.D.
Federal University of Ceara
Physiology and Pharmacology Department
Rua Cel Nunes de Melo, 1127 – CP 3157

Fortaleza, Ceara 60.430–270
Brazil

President

Stephen M. Strittmatter, MD, FAAN
Tampa, Florida

President Elect

Robert C. Griggs, MD, FAAN
Rochester, New York

Vice President

Michael L. Goldstein, MD, FAAN
Salt Lake City, Utah

Secretary

Terrence L. Cascino, MD, FAAN
Rochester, Minnesota

Treasurer

Bruce Sigbee, MD, FAAN
Rockport, Maine

DIRECTORS

Susan B. Bressman, MD, FAAN
New York, New York

Vinay Chaudhry, MD, FAAN
Baltimore, Maryland

Katherine A. Henry, MD, FAAN
New York, New York

Timothy A. Pedley, MD, FAAN
New York, New York

Laura B. Powers, MD, FAAN
Knoxville, Tennessee

Ralph L. Sacco, MD, FAAN
Miami, Florida

Lisa M. Shulman, MD, FAAN
Baltimore, Maryland

Mark S. Yehly, MD, FAAN
Portland, Oregon

Catherine A. Zahn, MD, FAAN
Toronto, Ontario

Past President

Thomas R. Swift, MD, FAAN
Augusta, Georgia

Neurology Journal

Editor-in-Chief

John H. Noseworthy, MD, FAAN
Rochester, Minnesota

Chair, AAN Foundation
Austin J. Sumner, MD, FAAN
New Orleans, Louisiana

Chair, AAN Enterprises, Inc.
Steven P. Ringel, MD, FAAN
Denver, Colorado

Executive Director/CEO
AAN & AAN Foundation
Catherine M. Rydell, CAE
St. Paul, Minnesota

Dear Dr. Peixoto Junior:

We are pleased to inform you that your scientific abstract, number **2212** entitled "**Clinical Evolution of the Somatic and Autonomic Neuropathy Induced by Chronic Intravenous Vincristine Administration in Awake Rats: A New Model of Autonomic Neuropathy**" has been selected for presentation at the American Academy of Neurology 60th Annual Meeting, April 12 to April 19, 2008, at the McCormick Place West Convention Center in Chicago, IL. Please read the following information.

Poster Presentation Information:

Your poster presentation number is **P07.112**. You are scheduled to present this at **Poster Session P07** on **April 17, 2008**. Enclosed is a set of guidelines. Please use as a reference for making your poster. Posters are on display from 11:30 a.m. – 2:30 p.m. You or one of your co-authors must stand by your display from 12:00 p.m. to 1:30 p.m. on that day. We are placing a nametag on each poster with the poster number (**P07.112**) that you should wear so that attendees can more easily recognize the presenter. I thank you in advance for your cooperation in wearing the additional identification. Posters may be set up between 11:00 a.m. and 11:30 a.m. Although your presence is not required after 1:30 p.m., the posters must remain on display until 2:30 p.m. Posters must be taken down between 2:30 p.m. and 3:30 p.m. Posters not removed by 3:30 p.m. will be thrown away.

User name: arnaldoapj

Password: raquel

As a poster presenter, you are required to complete the following tasks:

- 1. Complete the AAN On-Line Letter of Agreement:** To address attendees' concerns over undue industry influence at scientific programs, the Science Committee developed the AAN Letter of Agreement. Please log on to the following website (**which will be available after Feb. 11**) to sign the Letter of Agreement: www.aan.com/annualmeeting/abstracts. Your user name and password are shown above. This must be completed by March 3, 2008. Presenters who do not complete their Letter of Agreement will **NOT** be able to participate.
- 2. Confirm your disclosure statement:** The disclosure information you provided at the time of your submission will be displayed on your poster board and made available to meeting attendees on the AAN website prior to the start of the meeting. We require that all authors verify their disclosure online for this purpose. **It is important that you confirm your co-authors' disclosure information with them prior to noting it before your presentation.** Please log on to the following website to confirm your disclosure statement: www.aan.com/annualmeeting/abstracts. Your user name and password are shown above. This must be completed by March 3, 2008. **Please note that disclosure information is NOT based on a specific abstract but should cover any commercial financial relationship or other relationship that you or your immediate family has had in the past year.** Presenters who do not complete their disclosure information online will **NOT** be able to participate.
- 3. Register for the 2008 AAN Annual Meeting:** All abstract presenters must pay the meeting registration fee. To register for the Annual Meeting and reserve your housing, go to www.aan.com/go/am or call Convention Management Resources (CMR) at (800) 676-4226 (USA/Canada) or (415) 979-2283 (International). The early registration and housing deadline is March 7, 2008. All registrations after that date must be made on site at the McCormick Place West Convention Center in Chicago, IL. We encourage you to register early since registration rates do increase after March 7, 2008. Hotel rooms at a negotiated convention rate are available on a first-come, first-served basis.

circumstances when withdrawing an abstract may face sanctions from the AAN, including a suspension of abstract-submitting privileges in future years.

Category 1 CME Opportunity for Poster Presenters

In addition to earning Category 1 CME credits via the traditional methods (e.g., attending seminars, enduring materials), US licensed physicians may also earn AMA PRA Category 1 Credit™ for preparing a poster presentation, which is also included in the published abstracts, for a live activity approved for AMA PRA Category 1 Credit. To obtain credit for preparing a poster presentation, physicians must apply to the AMA Physician's Recognition Award (PRA) department. To apply and/or for more information on this specific CME opportunity, contact the AMA via phone at (312) 464-4672 or email pra2@ama-assn.org.

Non-sanctioned Highlights:

An increasing number of commercial organizations are offering highlights of annual meetings, including that of the American Academy of Neurology. At times, individuals from these organizations may indicate that they have some relationship with the Academy, and will ask for you to provide illustrations, tables, or major elements of your presentation for inclusion. While it is the goal of the Academy to bring material presented at the Annual Meeting before the public and the profession, we want to let you know that any communication regarding your presentation before or after the AAN Annual Meeting will only be through the Academy office, and not an outside organization. Those participating in such publications without AAN consent may face sanctions by the Science Committee. Moreover, you should know that if you allow extensive inclusion of material in any commercial presentation, you might jeopardize your ability to have this material published in a peer-reviewed journal, such as *Neurology*.

If you have any questions regarding your presentation, please contact Erin Jackson, Administrator, Scientific Program, at the Academy office at ejackson@aan.com or (651) 695-2704.

The Science Committee is committed to presenting the best neuroscientific research at its Annual Meeting. Thank you for sending your work to the American Academy of Neurology's Annual Meeting. I look forward to seeing you in Chicago.

Sincerely,



Stefan Pulst, MD, FAAN
Chair, AAN Science Committee and Scientific Program Subcommittee

SMP/eej
Enclosures

cc: Christine E. Phelps, Chief Education and Science Officer, Interim Foundation Director
Kris Fridgen, Associate Director, Center for Education and Science
Kevin Heinz, Manager, Scientific Program
Erin Jackson, Administrator, Scientific Program
Kyle Krause, Specialist, Scientific Program

POSTER SESSION VII

THURSDAY, APRIL 17 / 11:30 A.M.–2:30 P.M.

FIRST AUTHORS STAND BY POSTER FROM 12:00 P.M.–1:30 P.M.

P07.080 Diffusion-Weighted MR Imaging Findings in Vernicke's Encephalopathy *Jee Hoon Roh, Ji Hyun Kim, Seong-Beom Koh, Kiyung Jung, Moon Ho Park, Jin Sang Jung*

P07.081 Cervical Myelopathy Following Injections into the Neck: Report of Three Cases *Jeffrey Ralph, Robert Layzer*

P07.082 An Unusual Cause of Visual Loss *David Bradley, Niamh Bermingham, Anthony Cullinane, Catherine Keohane, Brian Sweeney*

P07.083 CNS Vasculitis as a Manifestation of Systemic Sclerosis *Corey Goldsmith, Joseph Kass*

PERIPHERAL NERVE: INFLAMMATORY: ANTIBODY MEDIATED NEUROPATHIES

P07.084 Oral Methotrexate in Multifocal Motor Neuropathy Patients Treated with IVIg *Eduardo Nobile-Orazio, Fabrizia Terenghi, Dario Cocito, Chiara Casellato*

P07.085 Multifocal Motor Neuropathy, a Population-Based Study in The Netherlands *Elisabeth A. Cats, Willem L. van der Pol, John Wokke, Renske Van Den Berg-Vos, Hessel Franssen, Leonard Van den Berg*

P07.086 Anti-Ganglioside Autoantibodies Profiling in Patients with Autoimmune Peripheral Neuropathies by a New Line Immunoassay *Hauke Schneider, Karsten Conrad, Tjalf Ziemssen, Rene Louis Humbel, Dirk Roggenbuck*

P07.087 Chronic Demyelinating Polyneuropathy Associated with IgM Monoclonal Gammopathy without Anti-MAG Antibodies: Clinical, Electrophysiological and Laboratory Findings in 18 Cases *Jean-Marc Léger, Steven Vargas, Jean Neil, Emmanuel Fournier, Karine Viala, Thierry Maisonobe, Pierre Bouche, Jean-Michel Vallat*

P07.088 Long Term Outcome and Prognostic Factors of Polyneuropathy Associated with IgM Monoclonal Gammopathy *Jikke M. F. Niermeijer, Kathelijn Fischer, John Wokke, Nicolette Notermans*

P07.089 Beneficial Effects of Rituximab in Patients with Anti-MAG Neuropathy *Peter Siao-Tick-Chong, Nizar Souayah*

P07.090 New 10% Liquid Intravenous Immunoglobulin in Multifocal Motor Neuropathy: Prospective Study of Efficacy, Safety and Tolerability *Elisabeth A. Cats, Willem L. van der Pol, John Wokke, Renske Van Den Berg-Vos, Hessel Franssen, Leonard Van den Berg*

P07.091 Different Patterns of Cytokines Are Associated to Chronic Dysimmune Polyneuropathies *Maira Gironi, Marina Saresella, Alberto Angelini, Isabella Marventano, Ettore Beghi, Franca Guerini, Giovanni Antonini, Lara Ceresa, Enrica Mariani, Stefania Morino, Pasquale Ferrante, Raffaello Nemi*

P07.092 Peripheral Neuropathy in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients *Martin Ballegaard, Peter Gimsing*

P07.093 Long-Term Safety Profile of Immune Globulin Intravenous. 10% Caprylate/Chromatography Purified (IGIV-C; Gamunex®) Therapy in the Treatment of Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP) *Peter D. Donofrio, Vera Bril, Marinos Dalakas, Chunqin Deng, Kim Hanna, Hans Hartung, Richard Hughes, Norman Latov, Ingemar Merkies, Pieter Van Doorn*

PERIPHERAL NERVE: INFLAMMATORY: GBS AND CIDP

P07.094 Peripheral Plasmacytosis Predicts Intravenous Immunoglobulin Efficacy in Patients with Guillain-Barré Syndrome *Izumi Mori, Sophie Demeret, Francis Bolger, Guy Gorochov*

P07.095 Inside Guillain Barré Syndrome (GBS) – The Personal Experience of a Patient Who Is a Consultant in Rehabilitation Medicine *Angela McNamara, Timothy Lynch*

P07.096 Guillain-Barré Syndrome in a Referral Center of Mexico: High Frequency of Hand-Weakness Onset, Axonal and Motor Variants *Jose Luis Ruiz Sandoval, Chichete Erwin, Miguel Angel Andrade Ramos, Lucia Elizabeth Alvarez Palazuelos, Lima Ojeda Juan Manuel Valentin*

P07.097 Nerve Conduction Studies (NCS) in Patients with Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP) Treated with Intravenous Immunoglobulin Therapy Versus Placebo *Vera Bril, Hans Katzberg, Marinos Dalakas, Chunqin Deng, Peter Donofrio, Kim Hanna, Hans Hartung, Richard Hughes, Norman Latov, Ingemar Merkies, Pieter Van Doorn*

P07.098 Clinical Analysis of Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy *Su-Yeon Kim, Hyun-Jung Kim, Sung-Min Kim, Jung-Joon Sung, Kwang-Woo Lee*

P07.099 FTY720 Halts the Progression of Spontaneous Autoimmune Polyneuropathy in B7-2 Deficient NOD Mice *Betty Soliven, Hye Jung Kim, Cha-Gyun Jung, Hyun Bae, Rafael Kakazu, Robert Wollmann*

P07.100 CIDP with Minimal Change Disease: A Possible Clue to Determining Resistant Variants *Movassaghi Babak, Christopher S. Nance, Muhammad Ibrahim, Anthony J. Parravani*

P07.101 Efficacy of Interferon Beta-1a in Patients with Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy (CIDP) *Kenneth Gorson, Richard Hughes, Didier Cros, John Pollard, Jean Vallat, Katherine Riestler, Gudarz Davar, Katherine Dawson, Alfred Sandrock*

P07.102 Sural Nerve Morphology and Morphometry in Aging Rats *Valéria Paula S. Fazan, Luciana S. Sanada, Omar A. Rodrigues Filho, Cláudia D. Jeronimo, André Jeronimo*

P07.103 Fatigue in Peripheral Neuropathy *Thomas H. Brannagan, Frances M. Di Clemente, Eduardo De Sousa, Erik M. Feigen, Russell Chin, Howard Sander, Norman Latov, Bridget Carey*

AUTONOMIC DISORDERS

P07.104 WITHDRAWN

P07.105 Modulation of Baroreflex Sensitivity during Modified Oxford Manoeuvre – Application of the Trigonometric Regressive Analysis for Nonstationary Baroreflex Analysis *Julia Gasch, Heinz Ruediger, Tjalf Ziemssen*

P07.106 A Dynamic Analysis of Sudomotor Function Using QDIRT in a Human Model of Small Fiber Neuropathy *Ben M.W. Illigens, Christopher Gibbons, Roy Freeman*

P07.107 The Cutaneous Architecture of Autonomic Nerve Fiber Innervation *Ningshan Wang, Christopher Gibbons, Ben M.W. Illigens, Roy Freeman*

P07.108 A Comparison of the Quantitative Sudomotor Reflex Test with Skin Biopsy in Diagnosing Small Fiber Neuropathy *Khaled Anis, Kamal Chemali, Lan Zhou, Noémie Chémali*

P07.109 Usefulness of Infrared Dynamic Pupillometry in the Diagnosis of Small Fiber Neuropathy *Fawn Bradshaw, Kamal Chemali*

P07.110 Pupil Reaction to Olfactory and Trigeminal Stimuli *Christine B. Schrezenmaier, Tjalf Ziemssen, Jörn Lötsch, Benno Schuster, Thomas Hummel*

P07.111 Cold Face Test in the Assessment of Cardiovascular Function: Comparison with Other Tests *Ramesh K. Khurana*

P07.112 Clinical Evolution of the Somatic and Autonomic Neuropathy Induced by Chronic Intravenous Vincristine Administration in Awake Rats: A New Model of Autonomic Neuropathy *Arnaldo Aires Peixoto, Junior, Benedito C.V. Teles, Érico F. B. Castro, Patricia S. Aquino, Lucas G. Pinho, Armênio A. Santos, Francisco A. G. Gondim*

P07.113 Right Middle Cerebral Artery Stroke Blunts Cardiovascular Responses to Music, Left Middle Cerebral Artery Stroke Reduces Blood Pressure Response to Pleasant Music *Max J. Hiltz, Juliane Nath, Thomas Gryc, Samuel Wong, Mathew H. M. Lee, Harald Marthol, Brigitte Stempfer*

P07.114 Correlation between Orthostatic Hypotension and Supine Hypertension in Autonomic Synucleinopathies *Maria J. Tellez, Lucy J. Norcliffe-Kaufmann, Andrei Voustantiounk, Svetlana Lenina, Horacio Kaufmann*

P07.115 Sympathetic and Parasympathetic Abnormalities in the Early Stages of Peripheral Neuropathies *Joel V. Gutierrez, Andrei Voustantiounk, R. Mustelier, L. Zurina, Z. Camejo, Horacio Kaufmann*

P07.116 Asymmetric Dopamine Deficit Is Associated with Differential Patterns of Autonomic Nervous System Response to Mental Stress *Rachel Tomer, Jonathan Kushnir, Judith Aharon-Peretz, Uri Elyagon*

P07.117 Effects on Cardiovascular and Sympathetic Skin Regulation of Subthalamic Nucleus Deep Brain Stimulation (STN-DBS) in Parkinson's Disease with and without Orthostatic Hypotension *Valeria Tugnoli, Natascia Casula, Jay Guido Capone, Mariachiera Sensi, Maria Rosaria Tola, Rocco Quattrale*

P07.118 Migrainous Dysautonomia – A Novel Cause of Hypertension in Post-Menopausal Women *Ranjeeta Mani, Catherine Griffin, Thomas Chelmsky*

P07.119 Frequency of Syncope with Migrainous Features in a Population of Patients Referred for Autonomic Testing *Michael W. Chilungu, Amer Alsheklee, Thomas Chelmsky*

P07.120 Autonomic Neuropathy in Hepatitis C Virus (HCV) Infected Patients *Bruno Coutinho, Osvaldo J. M. Nascimento, Elizabeth Crespo, Gary Antezana, Celmir Vilaça, Marcos De Freitas, Marcelo Cruzeiro*

P07.121 Secondary Atrial Fibrillation Develops More Often after Rt MCA Infarct Than the Left Side *Jeong Lee, Ki-Whan Ji, So-Hyun Kim, Sung-Rae Kim, Seong-Hye Choi, Eun-Chul Song, Sa-Yoon Kang, Joung-Ho Rha*

60th Annual Meeting of the American Academy of Neurology

Abstract Number: 652562

Presenting Author Arnaldo Aires Peixoto Junior, M.D.

Department/Institution: Physiology and Pharmacology Department, Federal University of Ceará

Address: Rua Cel Nunes de Melo, 1127 - CP 3157

City/State/Zip/Country: Fortaleza, Ceará, 60.430-270, Brazil

Phone: (55)-85-3366-8345 **Fax:** (55)-85-3366-8333 **E-mail:** arnaldoapi@terra.com.br

Topic: Autonomic Disorders: Basic Science

Status: Post-Doctoral Trainee

Title: Clinical Evolution of the Somatic and Autonomic Neuropathy Induced by Chronic Intravenous Vincristine Administration in Awake Rats: a New Model of Autonomic Neuropathy

Arnaldo Aires Peixoto Junior, Benedito C.V. Teles, Érico F.B. Castro, Patrícia S Aquino, Lucas G. Pinho, Armênio A. Santos and Francisco A.A. Gondim.

To describe an animal model of vincristine-induced autonomic neuropathy.

Vincristine is a chemotherapy drug and its use is limited by peripheral neuropathy with autonomic, sensory and motor involvement.

Vincristine sulphate or saline was injected into the tail vein at the doses of 50 µg/Kg (5 doses), 100 µg/Kg (2-5 doses) or 150 µg/Kg (1, 2 or 5 doses) QOD in 144 male Wistar rats (200-250g). Next day, they were gavage-fed with a test meal and sacrificed 10 minutes later. Gastric and intestinal dye recovery was determined by spectrophotometry. Basal mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) and peak values of MAP and HR after i.v. phenylephrine 5 mg/Kg and atropine 0.5 mg/Kg were used to evaluate the baroreflex responses. Differences were evaluated by One-Way ANOVA with $P < 0.05$.

Chronic administration of higher doses (150 µg/kg) delayed gastric emptying (GE) one day after 5 doses ($P < 0.05$). This was similarly present one day after treatment with 2 doses but not after one dose of 150 µg/kg ($P < 0.05$). Vincristine (150 µg/Kg) immediately decreased fecal output ($P < 0.05$). Treatment with 2 doses of vincristine 150 µg/Kg and 5 doses of vincristine 100 µg/Kg or 150 µg/Kg increased colonic weights ($P < 0.05$). Vincristine reduced withdrawal latencies after 5 doses of 50 µg/Kg and 100 µg/Kg ($P < 0.05$). The effect of vincristine on the GE was not present in rats treated with 5 doses of vincristine 150 µg/kg one week and two weeks after the last dose ($P > 0.05$). The withdrawal latency decrease lasted for at least 2 weeks after 5 doses of 150 µg/Kg, $P < 0.05$. Vincristine enhanced the HR reduction induced by phenylephrine and atropine ($P < 0.05$).

Vincristine-induced autonomic neuropathy courses with delayed GE, altered baroreflex responses, decreased fecal output and increased colonic weight. Sensory neuropathy preceded and outlasted the autonomic changes.

CNPq and UFC



1: [Braz J Med Biol Res.](#) 2009 Jun;42(6):567-73.

[Related Articles,](#) [Links](#)

free full text
available at **SciELO.org**

Vincristine delays gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats.

[Peixoto Júnior AA](#), [Teles BC](#), [Castro EF](#), [Santos AA](#), [de Oliveira GR](#), [Ribeiro RA](#), [Rola FH](#), [Gondim FA](#).

Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

We evaluated the effects of vincristine on the gastrointestinal (GI) motility of awake rats and correlated them with the course of vincristine-induced peripheral neuropathy. Vincristine or saline was injected into the tail vein of male Wistar rats (180-250 g) on alternate days: 50 microg/kg (5 doses, N = 10), 100 microg/kg (2, 3, 4 and 5 doses, N = 49) or 150 microg/kg (1, 2, or 5 doses, N = 37). Weight and stool output were measured daily for each animal. One day after completing the vincristine treatment, the animals were fasted for 24 h, gavage-fed with a test meal and sacrificed 10 min later to measure gastric emptying (GE), GI transit and colon weight. Sensory peripheral neuropathy was evaluated by hot plate testing. Chronic vincristine treatments with total cumulative doses of at least 250 microg/kg significantly decreased GE by 31-59% and GI transit by 55-93%. The effect of 5 doses of vincristine (150 microg/kg) on GE did not persist for more than 1 week. Colon weight increased after 2 and 5 doses of vincristine (150 microg/kg). Fecal output decreased up to 48 h after the fifth dose of vincristine (150 microg/kg). Vincristine decreased the heat pain threshold 1 day after 5 doses of 50-100 microg/kg or after 3-5 doses of 150 microg/kg. This effect lasted for at least 2 weeks after the fifth dose. Chronic intravenous vincristine treatment delayed GE and GI transit of liquid. This effect correlated with the peak increase in colon weight but not with the pain threshold changes.

Publication Types:

[Research Support, Non-U.S. Gov't](#)

PMID: 19448908 [PubMed - in process]

Vincristine delays gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats

A.A. Peixoto Júnior^{1,2}, B.C.V. Teles¹, E.F.B. Castro¹, A.A. Santos¹, G.R. de Oliveira^{1,2}, R.A. Ribeiro¹, F.H. Rola¹ and F.A.A. Gondim^{1,2}

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, ²Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

Correspondence to: F.A.A. Gondim, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Rua Cel. Nunes de Melo, 1127, 60430-270 Fortaleza, CE, Brasil
Fax: +55-85-3366-8333. E-mail: gondimfranc@yahoo.com

We evaluated the effects of vincristine on the gastrointestinal (GI) motility of awake rats and correlated them with the course of vincristine-induced peripheral neuropathy. Vincristine or saline was injected into the tail vein of male Wistar rats (180-250 g) on alternate days: 50 µg/kg (5 doses, N = 10), 100 µg/kg (2, 3, 4 and 5 doses, N = 49) or 150 µg/kg (1, 2, or 5 doses, N = 37). Weight and stool output were measured daily for each animal. One day after completing the vincristine treatment, the animals were fasted for 24 h, gavage-fed with a test meal and sacrificed 10 min later to measure gastric emptying (GE), GI transit and colon weight. Sensory peripheral neuropathy was evaluated by hot plate testing. Chronic vincristine treatments with total cumulative doses of at least 250 µg/kg significantly decreased GE by 31-59% and GI transit by 55-93%. The effect of 5 doses of vincristine (150 µg/kg) on GE did not persist for more than 1 week. Colon weight increased after 2 and 5 doses of vincristine (150 µg/kg). Fecal output decreased up to 48 h after the fifth dose of vincristine (150 µg/kg). Vincristine decreased the heat pain threshold 1 day after 5 doses of 50-100 µg/kg or after 3-5 doses of 150 µg/kg. This effect lasted for at least 2 weeks after the fifth dose. Chronic intravenous vincristine treatment delayed GE and GI transit of liquid. This effect correlated with the peak increase in colon weight but not with the pain threshold changes.

Key words: Constipation; Gastrointestinal transit; Peripheral neuropathy; Rat gastric emptying; Vincristine

Part of the requirements for a Master of Science Dissertation, presented by A.A. Peixoto Júnior to the Universidade Federal do Ceará.

Research supported by grants from Universidade Federal do Ceará (#0261790), CNPq (#450024/2008-3 and #304728/2004-7), and Fundação Cearense de Pesquisa (FUNCAP #628/06).

Received May 19, 2008. Accepted February 26, 2009

Introduction

The therapeutical use of *Vinca rosea* was recognized by indigenous people who used the infusion of leaves to control hemorrhage, for healing and cleansing of chronic wounds and as a mouthwash for toothache (1). Vincristine is a chemotherapeutic agent derived from *Vinca rosea* (Linn), which has been widely employed against hematological malignancies and solid tumors since the 1960's

(2,3). However, its use is limited by a wide spectrum of negative systemic effects such as neurotoxicity, orthostatic hypotension, gastrointestinal (GI) complications, loss of appetite, alopecia, and hyponatremia (4).

Neurotoxicity, especially against the somatic and autonomic peripheral nervous system, is the most commonly reported systemic complication (5). Neurotoxicity manifests mainly as peripheral neuropathy with predominant sensory findings. In humans, autonomic involvement has

been widely reported (6). GI complications can be severe and include constipation, paralytic ileus and Olgivie's syndrome (7), in some cases leading to death due to bowel perforation (8). The impact of vincristine on GI motility and other autonomic functions has not been adequately studied in humans or animals (9,10). Acute intravenous (*iv*) administration of vincristine increases the intestinal myoelectrical activity (11) and delays GI transit in rats (12). Although the acute effect of vincristine on GI motility has been described, to our knowledge, there are no studies addressing the chronic effects of vincristine on rats, which may be significant, given the possibility of development of autonomic neuropathy (13).

Thus, the objectives of the present study were to determine the impact of acute and chronic *iv* vincristine treatment on the gastric emptying (GE) and GI transit of liquids in awake rats and to determine the relationship between these effects and the development of somatic neuropathy.

Material and Methods

Animals, drugs and experimental design

Experiments were performed on male Wistar rats weighing 200 to 250 g. All procedures and animal treatments were conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (DHEW Publication No. (NIH) 85-23, Bethesda, MD, USA) and were approved by the Institutional Review Board of the Universidade Federal do Ceará (#109/07).

The rats were anesthetized with ether and treated with vincristine, which was slowly injected intravenously into the tail vein every other day. Sham animals received equivalent amounts of saline according to their weight.

Vincristine sulfate (Tecnocris™, Eurofarma/Zodiaco Produtos Farmacêuticos S/A, Brazil, 1 mg/mL) was diluted with saline to concentrations of 15, 30, and 45 µg/mL. Then, vincristine was administered by *iv* injection into the tail vein at doses of 50, 100, or 150 µg/kg every other day. A subgroup of rats (N = 5) received 5 doses of 50 µg/kg vincristine (total cumulative dose of 250 µg/kg), four other subgroups received either 2 (N = 6), 3 (N = 6), 4 (N = 5), or 5 doses of 100 µg/kg vincristine (N = 9; total cumulative dose of 200-500 µg/kg), and the three remaining subgroups received 1 (N = 5), 2 (N = 6) or 5 doses of 150 µg/kg vincristine (N = 7; total cumulative dose of 150-750 µg/kg). This protocol was similar to the model described by Authier et al. (14) to study vincristine-induced sensory peripheral neuropathy in rats.

The thermal latency threshold and fecal output were measured at different times before and during the treatment with *iv* vincristine. One day after the last administra-

tion of vincristine, we evaluated the colonic weight, GE, and GI transit of liquids.

Two subgroups of rats treated with 5 doses of 150 µg/kg vincristine were maintained for 1 (N = 6) or 2 weeks (N = 5), with food and water *ad libitum*. In these 2 groups, the thermal latency threshold was assessed 24 h prior to the measurement of GE and GI transit. The animals were also fasted for 24 h prior to the assessment of GE and of GI transit.

GE and GI transit measurements

The animals were fasted for 24 h prior to the GE and GI transit measurements, but water was allowed *ad libitum* until 2 h before the measurements. We used a modification of the technique described by Reynell and Spray (15) for GE and GI transit measurements, which we have previously utilized (16,17). First, 1.5 mL of the test meal containing a nonabsorbable marker (0.5 mg/mL phenol red solution in 5% glucose) was given orally by gavage. After 10 min, the animals were killed by cervical dislocation. The stomach and small intestine were exposed by laparotomy, quickly clamped at the pylorus, cardia and terminal ileum, and then removed. The stomach and small intestine from the gastroduodenal junction to the cecum were carefully stretched along a meter-stick on a plain table top and divided into the following four consecutive segments: stomach, proximal (40% of small intestine), middle (30% of small intestine), and distal small intestine (last 30%).

Each segment was placed in a measuring cylinder and its volume was measured by adding 100 mL 0.1 N NaOH. They were cut in small pieces and homogenized for 30 s. The suspension was allowed to settle for 20 min at room temperature and 10 mL of the supernatant was centrifuged for 10 min at 2800 rpm (about 1400 g). Proteins in 5 mL of the homogenate were precipitated with 0.5 mL trichloroacetic acid (20% w/v) and centrifuged for 20 min at 2800 rpm (about 1400 g), and 3 mL from the supernatant was added to 4 mL 0.5 N NaOH. The absorbance of the sample was read at 560 nm. A standard dilution curve was obtained in each experiment relating the concentration of phenol red in 0.1 N NaOH to absorbance at 560 nm. The linear coefficient of the standard dilution curve (α) was established and used to determine the concentration of the solution read at 560 nm and the amount of phenol red recovered from each segment.

The percent recovery of phenol red in each segment was determined according to the following equation: % recovery in segment = amount of phenol red recovered in the segment / total amount of phenol red recovered from all four segments x 100.

Fecal output and colon weight

Animals were placed in separate Bowman cages with

food and water available *ad libitum* except when GE and GI transit studies were scheduled. Weight and stool output were measured daily for each animal. Colon weight was measured after sacrifice to assess the presence of increased fecal retention.

Thermal latencies

Thermal threshold assessment was performed using the hot plate method described by Eddy and Leimbach (18), which was modified by O'Callaghan and Holtzman (19) to determine paw withdrawal latencies before and after the administration of different doses of vincristine or saline. Rats were placed on a hot plate surface (I.I.T.C. Life Science, USA) with a heat source to maintain a constant temperature of $51 \pm 0.5^\circ\text{C}$. A typical response used to define the threshold consisted of a discomfort reaction, i.e., licking of the hind paws or jumping. The latency in time until reaction was recorded manually with a chronometer and a cut-off time of 20 s was used. Hyperalgesia to heat was defined as a decrease in withdrawal latency.

Withdrawal latencies were determined at baseline, before vincristine (N = 5) or saline (N = 5) administration and 24 h after the first, third and fifth doses. The subgroups of rats treated with 5 doses of 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine or saline were observed 1 and 2 weeks after the last dose.

General toxicity

We also evaluated the presence of general toxicity by determining the amount of weight loss, diarrhea, alopecia, piloerection, and death.

Statistical analysis

The results are reported as means \pm SEM. One-way analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni's test were used to compare the differences in phenol red recovery, stool and colon weight and the thermal latencies between the various groups. Thereafter, two-way ANOVA was performed to determine whether the GI motility changes induced by vincristine were dose-dependent. Differences were considered to be statistically significant at $P < 0.05$.

Results

Effect of chronic *iv* vincristine treatment on gastric and gastrointestinal phenol red recovery

Table 1 shows that phenol red recovery in the stomach was significantly increased by chronic vincristine treatment by 31-59% and gastrointestinal phenol red recovery increased by 55-93%. As can be seen in Table 1, the minimal total cumulative dose of vincristine necessary to induce GI motility inhibition was 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$. In rats treated with one dose of 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine and with two doses of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine, the phenol red recovery in the stomach and small intestine was similar to that observed in the control group. However, as can be seen in Figure 1A, chronic administration of higher doses of *iv* vincristine (5 doses of 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 3, 4, and 5 doses of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 2 and 5 doses of 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$) significantly increased phenol red recovery in the stomach 1 day after the last dose ($P < 0.05$). Two-way ANOVA revealed that the effect of vincristine on the GE or GI transit of liquid was not dose-dependent.

Table 1. Effect of intravenous vincristine administration on the dye recovery in the stomach, proximal, middle and distal small intestine (when present) of awake rats, 10 min after gavage administration of 1.5 mL of a 0.5 mg/mL phenol red solution in 5% glucose, 1 day after 5 doses of vincristine 50, 100, or 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Treatment	Vincristine					Saline				
	Stomach	Proximal	Middle	Distal	N	Stomach	Proximal	Middle	Distal	N
50 $\mu\text{g}/\text{kg}$										
5 doses	63.9 \pm 3.0*	23.1 \pm 1.4	12.8 \pm 3.3*	0.0 \pm 0.0*	5	43.7 \pm 6.2	27.1 \pm 3.4	28.1 \pm 4.4	0.9 \pm 0.1	5
100 $\mu\text{g}/\text{kg}$										
2 doses	53.0 \pm 5.1	30.7 \pm 2.9	16.1 \pm 5.2	0.0 \pm 0.0	6	48.6 \pm 1.9	30.0 \pm 1.5	21.3 \pm 1.8	0.0 \pm 0.0	8
3 doses	54.5 \pm 2.9*	27.8 \pm 2.0	17.6 \pm 4.4	0.0 \pm 0.0*	6	38.1 \pm 6.6	30.2 \pm 3.3	23.4 \pm 6.8	8.1 \pm 1.9	5
4 doses	57.8 \pm 1.0*	22.8 \pm 1.8	19.2 \pm 1.7	0.0 \pm 0.0*	5	44.0 \pm 4.5	20.3 \pm 2.1	24.7 \pm 2.1	10.8 \pm 4.3	5
5 doses	62.2 \pm 3.7*	30.0 \pm 2.3	7.2 \pm 2.2*	0.4 \pm 0.4*	9	43.7 \pm 6.2	27.1 \pm 3.4	28.1 \pm 4.4	0.9 \pm 0.1	5
150 $\mu\text{g}/\text{kg}$										
1 dose	44.7 \pm 3.2	35.0 \pm 1.0	16.5 \pm 1.8	3.6 \pm 1.6	5	45.0 \pm 3.1	23.8 \pm 2.0	23.7 \pm 2.5	7.3 \pm 1.9	6
2 doses	69.3 \pm 4.4*	29.2 \pm 3.2	1.4 \pm 1.4*	0.0 \pm 0.0	6	48.6 \pm 1.9	30.0 \pm 1.5	21.3 \pm 1.8	0.0 \pm 0.0	8
5 doses	69.3 \pm 3.3*	26.8 \pm 2.5	4.1 \pm 1.3*	0.3 \pm 0.3	7	43.7 \pm 6.2	27.1 \pm 3.4	28.1 \pm 4.4	0.9 \pm 0.1	5

Data are reported as means \pm SEM. N = number of animals in each experimental subgroup. * $P < 0.05$ vs saline (ANOVA and Bonferroni's test).

Effect of chronic *iv* vincristine treatment on colonic function

Vincristine treatment with doses of 150 µg/kg decreased the daily fecal output from 3.4 ± 0.4 to 1.1 ± 0.4 g after the first dose ($P < 0.05$). This effect persisted after repeated administration of vincristine, and 48 h after 5 doses of vincristine (150 µg/kg) the stool output was still significantly decreased to 1.0 ± 0.4 g (Figure 1C), $P < 0.05$.

The colon weight of rats sacrificed 24 h after the fifth dose of 50 µg/kg vincristine was 2.2 ± 0.4 g, similar to control values of 2.4 ± 0.1 g (Figure 1B). The colon weight of rats submitted to 3 or 4 doses of 100 µg/kg vincristine was also similar to that of control animals: 2.8 ± 0.2 and 2.9 ± 0.1 g, respectively; $P > 0.05$.

As can be seen in Figure 1B, animals treated with two doses of 150 µg/kg vincristine and 5 doses of 100 or 150

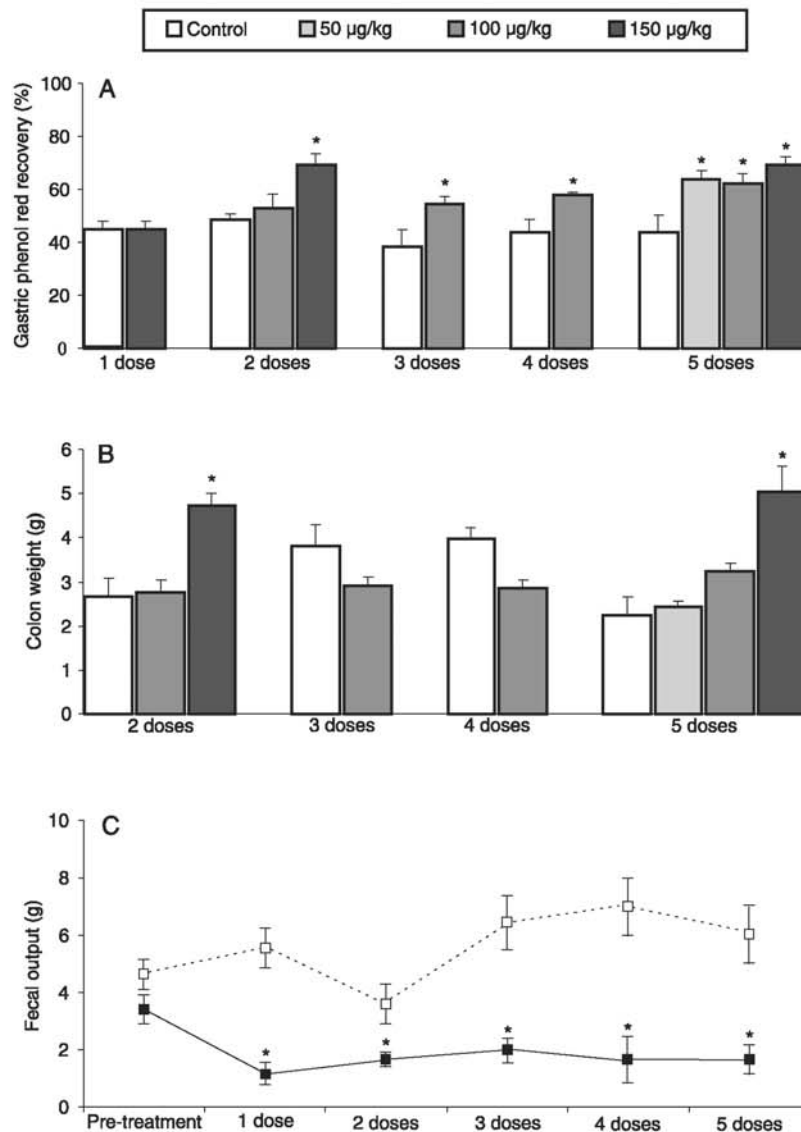


Figure 1. Effect of vincristine administered on alternate days on phenol red recovery (A), colon weight (B) and fecal output (C). Measurements were made 1 day after 5 doses of 50 µg/kg vincristine administered *iv*; 2, 3, 4, and 5 doses of 100 µg/kg, and 1, 2 and 5 doses of 150 µg/kg. Data are reported as means \pm SEM, $N = 5-9$. * $P < 0.05$ vs respective control (Student-Newman-Keuls test).

$\mu\text{g}/\text{kg}$ exhibited a significant increase in colon weight, i.e., 4.0 ± 0.2 , 3.2 ± 0.1 , and 5.0 ± 0.5 g, respectively ($P < 0.05$).

Effect of chronic *iv* vincristine treatment on thermal pain thresholds

Vincristine treatment significantly ($P < 0.05$) reduced paw withdrawal latencies after 5 doses of $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (from 11.3 ± 1.3 to 5.7 ± 0.6 s) or $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ (from 9.8 ± 1.2 to 4.7 ± 0.5 s). This effect also occurred after 3 doses of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ (12.2 ± 0.7 vs 9.2 ± 1.0 s) and was more intense after 5 doses of vincristine at $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ (6.5 ± 0.5 s, $P < 0.05$). After 1 dose of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine, there was no significant reduction in paw withdrawal latencies: 12.2 ± 0.7 vs 10.8 ± 1.4 s.

The effects of lower doses of vincristine (1 and 3 doses of $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ and 1 and 3 doses of $100 \mu\text{g}/\text{kg}$) on paw withdrawal latencies also showed a trend ($P > 0.05$) to a reduction when compared to baseline latencies: 11.3 ± 1.3 vs 7.8 ± 1.5 and 10.6 ± 2.3 s for the $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ group and 9.8 ± 1.2 vs 5.3 ± 0.7 and 6.1 ± 0.6 s for the $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ group.

Effect of chronic *iv* vincristine treatment on GE, GI transit and colonic function

The effect of vincristine on the GE and GI transit of liquid was not present in rats treated with 5 doses of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ and sacrificed 1 or 2 weeks after the last dose (Table 2; $P > 0.05$).

Stool output returned to baseline levels 96 h after the fifth dose of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine (6.8 ± 2.5 g; $P > 0.05$). However, as can be seen in Table 2, the colonic weight was still increased in the subgroup of animals sacrificed 1 week after 5 doses of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine: 4.2 ± 0.3 g ($P > 0.05$). However, in the subgroup of animals sacrificed 2 weeks after the fifth dose of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine, the colonic weight was similar to that of the control group: 3.5 ± 0.4 g ($P > 0.05$).

The decrease in paw withdrawal latencies was present 1 or 2 weeks after 5 doses of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine (12.8 ± 1.2 vs 6.9 ± 1.0 s and 12.8 ± 1.2 vs 5.2 ± 0.4 s; $P > 0.05$), but was not present in control animals: 12.9 ± 1.4 vs 8.6 ± 0.6 and 12.9 ± 1.4 vs 8.4 ± 0.4 ; Table 2; $P > 0.05$.

Two rats treated with 5 doses of vincristine $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($N = 5$) developed diarrhea. Transient weight loss (17.4%) due to vincristine treatment was also observed (215.4 ± 4.9 vs 177.9 ± 7.9 g; $P > 0.05$), but with prompt weight recovery 8 days after vincristine was discontinued (196.3 ± 11.0 g; $P > 0.05$). Alopecia and death due to vincristine administration did not occur. Transient piloerection was also observed in some animals treated with the higher doses of vincristine ($150 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Discussion

GI motility changes are an important adverse effect of vincristine administration, reducing the quality of life of patients submitted to vinca-alkaloid chemotherapy (4). Constipation, paralytic ileus and dysmotility of the upper GI tract are common in these patients (7,8). However, few studies have examined changes of GI motility in the proximal gut and the relationship between peripheral neuropathy and GI dysmotility (9). Our results demonstrated that chronic vincristine treatment delayed the GE and GI transit of liquid in awake rats. The minimum total cumulative dose of vincristine, which could induce these GI motility changes was $250 \mu\text{g}/\text{kg}$. Total cumulative doses above $250 \mu\text{g}/\text{kg}$ produced a similar delay in GE and GI transit and therefore the overall effect of vincristine was not dose-dependent. This delay in GE and GI transit was not demonstrable 1 or 2 weeks after the treatment with 5 doses of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine was completed.

Kaneko et al. (11) evaluated the effect of vincristine on the gastric antral motility of rats and observed that one dose of $750 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine acutely increased gastric motility 2 h after its injection, suggesting a presynaptic cholinergic activation. However, decreased gastric motility was observed on the second day after the injection. Sninsky (12) reported similar findings: increased myoelectric activity of the small intestine 2 h after vincristine administration, with a return to control levels within 6 h after injection and a markedly reduced action-potential activity after 3 days.

In the present study, we determined whether doses

Table 2. Phenol red recovery, colon weight, and thermal latency 1 day and 1 and 2 weeks after 5 doses of $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ vincristine or saline.

	Control/pre-treatment	One day	One week	Two weeks
Gastric phenol red recovery (%)	57.8 ± 3.7	$69.3 \pm 3.3^*$	60.5 ± 3.6	55.9 ± 4.0
Colon weight (g)	2.4 ± 0.1	$5.0 \pm 0.5^*$	$4.2 \pm 0.3^*$	3.5 ± 0.4
Thermal latency (vincristine)	12.8 ± 1.2	$7.2 \pm 0.8^*$	$6.9 \pm 1.0^*$	$5.2 \pm 0.4^*$
Thermal latency (saline)	12.9 ± 1.4	9.5 ± 0.6	8.6 ± 0.6	8.4 ± 0.4

Data are reported as means \pm SEM, $N = 5-7$. * $P < 0.05$ vs control (ANOVA and Bonferroni's test).

that induce somatic peripheral neuropathy can cause changes in GI motility. For this purpose, we employed the animal model of sensory neuropathy previously reported by Authier et al. (14). The reduction of paw withdrawal latencies detected by hot plate testing in vincristine-treated, but not in control animals, demonstrated that our animals developed thermal hyperalgesia, which is consistent with the clinical expression of sensory neuropathy.

Our findings suggest that the GE and GI transit delay after vincristine administration is not correlated with the temporal course of the sensory neuropathy. Somatic neuropathy (thermal hyperalgesia) was quickly induced by lower doses of vincristine and persisted until 2 weeks after the last dose of 150 µg/kg, while the delay of GE and GI transit was transient, with recovery after 2 weeks in the same group. These results suggest that the GI motility changes induced by chronic vincristine treatment are not due to the presence of neuropathic pain induced by vincristine, which could potentially enhance adrenergic activity. Moreover, we have also observed that guanethidine treatment does not prevent the development of the GI motility changes induced by vincristine (Peixoto AA Jr, Gondim FAA, unpublished results).

The most common effects of vincristine on the gastrointestinal tract in humans are constipation, abdominal pain and paralytic ileus (20). GI dysfunction and bladder disturbances may result from autonomic nerve damage (21). However, the exact pathological and neurophysiological mechanisms responsible for the GI motility changes after vincristine treatment have not been established (4). Similar to our animal model, GI and urinary disturbances induced by vincristine in humans usually start after the development of peripheral neuropathy (21). Mitolo-Chieppa

et al. (22) studying the effect of vincristine on gastric vagus branches in rats, described a progressive inhibition of nerve activity with increased vincristine doses. These previous studies suggest that the GI motility changes observed in our animal model may be due to autonomic dysfunction induced by vincristine. Preliminary experiments using this protocol revealed baroreflex activity changes, which further reinforce the idea of a vincristine-induced autonomic neuropathy leading to GE and GI transit delays (Peixoto AA Jr, Gondim FAA, unpublished results).

Similar to humans, vincristine-induced fecal retention was reproduced in our animal model. This reduction in fecal output was associated with increased colon weight. Similar to humans, this effect was transient in rats, with recovery of fecal output 4 days after five doses of vincristine and normal colon weight 2 weeks after treatment. Since the GI motility changes were present when the fecal impaction and decreased colon weight were more evident, it is tempting to speculate that these changes might have played a role in the upper GI motility dysfunction after vincristine treatment, similar to that which we have previously observed in rats after high spinal cord injury (16,17,23).

The present results provide the first evidence that vincristine delays gastric emptying and transit, which indicates chronic dysautonomic changes in the GI tract in experimental models.

Acknowledgments

We would like to thank Mr. Antônio Haroldo Pinheiro Ferreira from the Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, for technical assistance.

References

1. Peckolt T. Heil- und Nutzpflanzen Braziliens. *Ber Dtsch Pharm Ges* 1910; 20: 36-58.
2. Johnson IS, Wright HF, Svoboda GH, Viantis J. Antitumor principles derived from *Vinca rosea* Linn. I. Vincalokoblastine and leurosine. *Cancer Res* 1960; 20: 1016-1022.
3. Bohannon RA, Miller DG, Diamond HD. Vincristine in the treatment of lymphomas and leukemias. *Cancer Res* 1963; 23: 613-621.
4. Rosenthal S, Kaufman S. Vincristine neurotoxicity. *Ann Intern Med* 1974; 80: 733-737.
5. Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* 2002; 249: 9-17.
6. Roca E, Bruera E, Politi PM, Barugel M, Cedaro L, Carraro S, et al. Vinca alkaloid-induced cardiovascular autonomic neuropathy. *Cancer Treat Rep* 1985; 69: 149-151.
7. Harris AC, Jackson JM. Lactulose in vincristine-induced constipation. *Med J Aust* 1975; 2: 573-574.
8. Toghill PJ, Burke JD. Death from paralytic ileus following vincristine therapy. *Postgrad Med J* 1970; 46: 330-331.
9. Zhou XJ, Rahmani R. Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids. *Drugs* 1992; 44 (Suppl 4): 1-16.
10. Tarlaci S. Vincristine-induced fatal neuropathy in non-Hodgkin's lymphoma. *Neurotoxicology* 2008; 29: 748-749.
11. Kaneko H, Tomomasa T, Watanabe T, Takahashi A, Tabata M, Hussein S, et al. Effect of vincristine on gastric motility in conscious rats. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 952-959.
12. Sninsky CA. Vincristine alters myoelectric activity and transit of the small intestine in rats. *Gastroenterology* 1987; 92: 472-478.
13. Weissman-Fogel I, Dashkovsky A, Rogowski Z, Yarnitsky

- D. An animal model of chemotherapy-induced vagal neuropathy. *Muscle Nerve* 2008; 38: 1634-1637.
14. Authier N, Gillet JP, Fialip J, Eschalier A, Coudore F. A new animal model of vincristine-induced nociceptive peripheral neuropathy. *Neurotoxicology* 2003; 24: 797-805.
 15. Reynell PC, Spray GH. The simultaneous measurement of absorption and transit in the gastro-intestinal tract of the rat. *J Physiol* 1956; 131: 452-462.
 16. Gondim FA, Rodrigues CL, da Graça Jr, Camurca FD, de Alencar HM, dos Santos AA, et al. Neural mechanisms involved in the delay of gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid after thoracic spinal cord transection in awake rats. *Auton Neurosci* 2001; 87: 52-58.
 17. Gondim FA, Rodrigues CL, Lopes AC Jr, Leal PR, Camurca FL, Freire CC, et al. Effect of preinjury large bowel emptying on the inhibition of upper gastrointestinal motility after spinal cord injury in rats. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 1713-1718.
 18. Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 107: 385-393.
 19. O'Callaghan JP, Holtzman SG. Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 192: 497-505.
 20. McLeod JG, Penny R. Vincristine neuropathy: an electrophysiological and histological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1969; 32: 297-304.
 21. Tormey DC. Neurotoxicity of vincristine. *Lancet* 1973; 1: 1312.
 22. Mitolo-Chieppa D, Aprile L, Grasso G. Effects of vinblastine and vincristine on the innervated rat stomach. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1976; 52: 806-811.
 23. Gondim FA, Lopes AC Jr, Cruz PR, Medeiros BA, Querioz DA, Santos AA, et al. On the complex autonomic changes involved in the inhibition of gastrointestinal motility after spinal cord injury (SCI). *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1136.