



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

MARIANA SOUSA SILVA

**EXERCÍCIO FÍSICO E TRATAMENTO COM PIRIDOSTIGMINA
PREVINEM DIMINUIÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO E
ALTERAÇÕES NA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO
INDUZIDAS POR CISPLATINA EM RATOS.**

TERESINA

2019

MARIANA SOUSA SILVA

**EXERCÍCIO FÍSICO E TRATAMENTO COM PIRIDOSTIGMINA
PREVINEM DIMINUIÇÃO DO Esvaziamento Gástrico e
ALTERAÇÕES NA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO
INDUZIDAS POR CISPLATINA EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/ Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção de título de Mestre em Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva

TERESINA

2019

MARIANA SOUSA SILVA

**EXERCÍCIO FÍSICO E TRATAMENTO COM PIRIDOSTIGMINA
PREVINEM DIMINUIÇÃO DO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO E
ALTERAÇÕES NA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO
INDUZIDAS POR CISPLATINA EM RATOS**

Banca examinadora:

Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva

(Orientador – Presidente da Banca) – UFPI

Prof. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos

(Examinador interno) – UFPI

Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes

(Examinador interno) - UFPI

Agradecimientos

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me dado a oportunidade de toda crescimento profissional e pessoal.

Ao Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM) e ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, que sempre me acolheram bem durante toda essa trajetória, assim como a todos os professores do programa, por todos os conhecimentos repassados durante esses anos.

Ao meu Orientador, Professor Doutor Moisés Tolentino Bento da Silva, por toda a paciência, dedicação e incentivo que oferece à todos nós que fazemos parte do Laboratório de Exercício e TGI.

Agradeço imensamente aos meus pais, Lúcia e Carlos, e a minha irmã, Carla Maria, por todo o carinho, cuidado e apoio que dedicaram a mim nesses anos de mestrado.

A meu esposo, Rhafael, pelo incentivo, força e compreensão que tem demonstrado durante a minha jornada no mestrado. Obrigada por sempre poder contar com você.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Exercício Físico e Trato Gastrointestinal: Yasmim, Mickael, Bryan, Lúcia, Pedro, Raísa, Lara, Geovane, Dyerson, Rainnerio, Alda, Juliana e Karol. Obrigada pelo convívio, pelas risadas e por todos os momentos de companheirismo compartilhados nesses meses.

Aos funcionários do NPPM, Patrícia e Josi, por toda atenção e disponibilidade prestada.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo apoio financeiro e suporte técnico através do Portal de Periódicos e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão de financiamento do projeto de pesquisa.

Agradeço a todos que de forma direta o indireta contrubuiram para que eu chegasse até aqui.

SILVA. M.S. Exercício físico e tratamento com piridostigmina previnem diminuição do esvaziamento gástrico e alterações na sensibilidade do barorreflexo induzidas por cisplatina em ratos.[Dissertação]. Piauí: Programa de Pós-graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Piauí, 2019.

RESUMO

A quimioterapia consiste no emprego de substâncias químicas, isoladas ou em combinação, com o objetivo de tratar as neoplasias malignas atuando em nível celular, interferindo no processo de crescimento e divisão, contudo sem especificidade, não destruindo seletivamente ou exclusivamente as células tumorais. Por não possuírem especificidade, essas drogas agredem também células normais que possuem características comuns às células tumorais. Devido esta agressão às células normais ocorre a toxicidade e os efeitos colaterais dos quimioterápicos. Cada quimioterápico possui seu perfil de toxicidade e efeitos colaterais, ressaltando-se a necessidade de abordagem terapêuticas farmacológicas ou não farmacológicas que previnam tais efeitos adversos. Vários estudos demonstram alterações gastrintestinais associadas ao uso de cisplatina. Entretanto, pouco se sabe sobre o efeito do exercício físico e da piridostigmina na atenuação desses efeitos colaterais relacionados a sua toxicidade. O objetivo desse estudo foi investigar o efeito do exercício físico e da piridostigmina sobre a dismotilidade gastrointestinal induzida por cisplatina em ratos. Os ratos foram submetidos a indução de dismotilidade gástrica com cisplatina (3mg/Kg) uma vez por semana durante cinco semanas administrada via intraperitoneal. Concomitantemente a indução de dismotilidade gástrica era realizada a administração de piridostigmina (1,5 mg/ml), via oral ou com treinamento físico de natação com sobrecarga de 5%, p.c. durante cinco dias na semana. Após cinco semanas de abordagem farmacológica ou não farmacológica, avaliamos a retenção gástrica, a responsividade de fundo gástrico ao carbacol, PAM, FC, VFC e sensibilidade do baroreflexo. A cisplatina aumentou significativamente ($p < 0,05$) a retenção gástrica dos animais submetidos a indução de dismotilidade gástrica, esse efeito foi prevenido pelo exercício físico e pela piridostigmina. Houve também uma diminuição significativa ($p < 0,05$) a responsividade de fundo gástrico ao carbacol dos animais do grupo cisplatina em relação aos ratos salina, foi observado que o exercício físico e a piridostigmina alterou significativamente ($p < 0,05$) a responsividade contrátil do fundo gástrico promovendo uma recuperação da contratilidade do fundo gástrico nas concentrações estudadas. A cisplatina causou aumento significativo ($p < 0,05$) da pressão arterial e diminuição da frequência cardíaca quando comparado com ratos salina, foi observado também diminuição significativa ($p < 0,05$) da sensibilidade do baroreflexo nos ratos cisplatina quando comparado aos ratos salina. Concluímos que a cisplatina aumenta a retenção gástrica e diminui a responsividade de fundo gástrico ao carbacol além de aumentar a pressão arterial e diminuir a sensibilidade do baroreflexo, esses efeitos foram prevenidos pelo exercício físico e piridostigmina.

Palavras-chave: cisplatina, esvaziamento gástrico, baroreflexo, exercício físico, piridostigmina

SILVA. M.S. Physical exercise and pyridostigmine treatment prevent decreased gastric emptying and changes in cisplatin-induced baroreflex sensitivity in rats [Dissertation]. Piauí: Graduate Program in Pharmacology. Federal University of Piauí, 2019.

ABSTRACT

Chemotherapy consists of the use of chemical substances, alone or in combination, to treat malignant neoplasms acting at the cellular level, interfering with the process of growth and division, but without specificity, not selectively or exclusively destroying the tumor cells. Because they do not have specificity, these drugs also attack normal cells that have characteristics common to tumor cells. Due to this aggression to normal cells, the toxicity and side effects of chemotherapeutic agents occur. Each chemotherapy has its profile of toxicity and side effects, highlight the need to approach pharmacological or non-pharmacological therapies that prevent such adverse effects. Several studies have demonstrated gastrointestinal changes associated with the use of cisplatin. However, little is known about the effect of exercise and pyridostigmine on the attenuation of these side effects related to its toxicity. The goal of this study was to investigate the effect of physical exercise and pyridostigmine on gastrointestinal dysmotility induced by cisplatin in rats. Rats submitted induction of gastric dysmotility with cisplatin (3mg / kg) once week for five weeks given intraperitoneally. Concomitantly with the induction of gastric dysmotility, it was made administration of pyridostigmine (1.5 mg / ml), orally or with physical exercise training with overload of 5%, p.c. for five days a week. After five weeks of pharmacological or non-pharmacological approach, we evaluated gastric retention, gastric fundus responsiveness to carbachol, MAP, HR, HRV and baroreflex sensitivity. Cisplatin increased significantly ($p < 0.05$) the gastric retention of the animals submitted to induction of gastric dysmotility, this effect was prevented by physical exercise and by pyridostigmine. There was also a significant ($p < 0.05$) decrease in the gastric fundus responsiveness to carbachol of animals from the cisplatin group compared to saline rats, it was observed that physical exercise and pyridostigmine significantly altered ($p < 0.05$) the responsiveness contractility of the gastric fundus promoting a recovery of contractility of the gastric fund at the concentrations studied. Cisplatin caused a significant ($p < 0.05$) increase in blood pressure and a decrease in heart rate when compared to saline rats, and a significant ($p < 0.05$) decrease in baroreflex sensitivity was observed in cisplatin mice when compared to saline rats . We conclude that cisplatin increases gastric retention and decreases gastric fundus responsiveness to carbachol in addition to increasing blood pressure and decreasing the sensitivity of the baroreflex, these effects were prevented by physical exercise and pyridostigmine

Key words: cisplatin, gastric emptying, baroreflex, physical exercise, pyridostigmine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fases do ciclo celular	20
Figura 2: Complicações gastrintestinais associadas aos antineoplásicos	23
Figura 3: Fórmula estrutural da cisplatina	26
Figura 4: Esturura e ativação da cisplatina	27
Figura 5: Ligação da molécula de cisplatina ao DNA	28
Figura 6: Influência do sistema nervoso autônomo no trato gastrintestinal e sistema cardiovascular	31
Figura 7: Terminal sináptico	31
Figura 8: Representação esquemática de delinemento experimental utilizado	40
Figura 9. Esquema de dosagem para indução de dismotilidade gástrica pela administração de cisplatina em ratos	42
Figura 10. Protocolo de exercício físico (5% p.c.)	44
Figura 11: Sistema <i>in vitro</i> utilizado. Transdutor de tensão acoplado a uma amplificador de sinal	46
Figura 12: Foto ilustrativa do sistema Power 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0)	48
Figura 13: Desenho experimental para avaliação da sensibilidade ao baroreflexo e avaliação do tônus autonômico	50
Figura 14: Efeito do Tratamento Crônico com Cisplatina sobre o Esvaziamento Gástrico de Ratos	52

Figura 15: Influência do treinamento físico sobre o aumento de retenção gástrica induzida por cisplatina em ratos	53
Figura 16: Efeito da piridostigmina sobre o aumento de retenção gástrica induzida por cisplatina em ratos	54
Figura 17: Resposta da responsividade ao carbacol (CCh) em tiras de fundo gástrico em ratos submetidos a indução com cisplatina	55
Figura 18: Influência do exercício físico sobre a redução de responsividade de CCh em tirar de fundo gástrico em ratos submetidos a indução com cisplatina	56
Figura 19: Resposta da piridostigmina sobre a redução de responsividade de CCh em tirar de fundo gástrico induzida por cisplatina em ratos	57
Figura 20: Traçado da responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico dos Grupos Salina, Cisplatina, Exercício, Cisplatina+Exercício	59
Figura 21: Traçado da responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico dos Grupos Salina, Cisplatina, Piridostigmina e Cisplatina+Piridostigmina	60
Figura 22: Resposta da pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina	62
Figura 23: Influência do treinamento físico sobre a pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina	63
Figura 24: Resposta da piridostigmina sobre a pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina	64
Figura 25: Traçados originais da PAM e PAP dos Grupos Salina, Cisplatina, Exercício, Cisplatina+Exercício	65
Figura 26: Traçados originais da PAM e PAP dos Grupos Salina, Cisplatina, Piridostigmina, Cisplatina+Piridostigmina	67
Figura 27: Resposta da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	69

Figura 28: Influência do treinamento físico sobre a frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	70
Figura 29: Resposta da piridostigmina sobre frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	71
Figura 30: Traçados originais da FC dos Grupos Salina, Cisplatina, Exercício, Cisplatina+Exercício	72
Figura 31: Traçados originais da PAM e PAP dos Grupos Salina, Cisplatina, Piridostigmina, Cisplatina+Piridostigmina	73
Figura 32: Resposta da variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	75
Figura 33: Influência do treinamento físico sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	76
Figura 34: Resposta da piridostigmina sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	77
Figura 35: Resposta do baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina	78
Figura 36: Influência do treinamento físico sobre o baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina	79
Figura 37: Resposta da piridostigmina sobre o baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina	80
Figura 38: Resposta do baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	81
Figura 39: Influência do exercício físico sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	82
Figura 40: Resposta do tratamento com piridostigmina sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	83

Figura 41: Resposta do tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	84
Figura 42: Influência do treinamento físico sobre o tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	85
Figura 43: Resposta da piridostigmina sobre tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	86
Figura 44: Resposta do tônus parassimpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	87
Figura 45: Influência do treinamento físico sobre o tônus parassimpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	88
Figura 46: Resposta da piridostigmina sobre tônus parassimpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	89
Figura 47: Resposta da frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina	90
Figura 48: Influência do treinamento físico sobre a frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina	91
Figura 49: Resposta da piridostigmina sobre frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina	92

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BPM batimentos por minuto

CCh carbacol

ECG eletrocardiograma

EF exercício físico

EG esvaziamento gástrico

eNOS Óxido nítrico sintase endotelial

FC frequência cardíaca

HAS hipertensão arterial sistêmica

ICC células intersticiais de cajal

I.M intramuscular

I.P intraperitoneal

LF baixa frequência

HF Alta frequência

mRNA RNA mensageiro

NADPH fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

NaOH hidróxido de sódio

NO óxido nítrico

O₂ ânion superóxido

PA pressão arterial

PAD pressão arterial diastólica

PAF fator de ativação de plaquetas

PAM pressão arterial média

PAP pressão arterial de pulso

PAS pressão arterial sistólica

PE polietileno

i. p intraperitoneal

RG retenção gástrica

RR intervalo RR

ROS espécies reativas de oxigênio

SNA sistema nervoso autônomo

SNC sistema nervoso central

SNE sistema nervoso entérico

SNP sistema nervoso periférico

TCA ácido tricloroacético

TGI trato gastrointestinal

VFC variabilidade da frequência cardíaca

v.o. via oral

UNIDADES

g grama

h hora

M molar

N normal

mg / kg miligrama por quilograma

mg / mL miligrama por mililitro

nm nanômetro

μL microlitro

μM micromoles

μg micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

1.1. QUIMIOTERAPIA	19
1.2. EFEITOS ADVERSOS DOS QUIMIOTERÁPICOS	22
1.3. CISPLATINA	25
1.4. FARMACODINÂMICA E FARMACOCINÉTICA DA CISPLATINA	25
1.5. DISFUNÇÃO AUTONÔMICA	29
1.6. PIRIDOSTIGMINA	31
1.7. EXERCÍCIO FÍSICO E TRATO GASTRINTESTINAL	33

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL	37
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL	39
3.2. FÁRMACOS E REAGENTES	39
3.3. ANIMAIS	39
3.4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	42
3.4.1. Indução de dismotilidade gástrica com cisplatina	42
3.4.2. Tratamento com piridostigmina	43
3.4.3. Protocolo de exercício físico	43
3.4.4. Avaliação do esvaziamento gástrico	44
3.4.5. Avaliação da responsividade ao carbacol em tiras de fundo gástrico	45
3.4.6. Procedimento cirúrgico para canulação da artéria e veia femoral e implantação de eletrodos para registro do eletrocardiograma	46
3.4.7. Avaliação direta da PAM e FC através do sistema PowerLab	47
3.4.8. Análise da variabilidade da frequência cardíaca	48
3.4.9. Análise da sensibilidade ao baroreflexo e tônus autonômico	49
3.5. Análise estatística	50
4. RESULTADOS	52
4.1. Respostas da retenção gástrica	52
4.1.1. Efeito do Tratamento Crônico com Cisplatina sobre o Esvaziamento Gástrico de Ratos	52

4.1.2. Influência do treinamento físico sobre o aumento de retenção gástrica induzida por cisplatina em ratos	53
4.1.3. Efeito da piridostigmina sobre o aumento de retenção gástrica induzida por cisplatina em ratos	54
4.2. Respostas da responsividade ao carbacol	55
4.2.1. Resposta da responsividade ao carbacol (CCh) em tiras de fundo gástrico em ratos submetidos a indução com cisplatina	55
4.2.2. Influência do exercício físico sobre a redução de responsividade de CCh em tirar de fundo gástrico em ratos submetidos a indução com cisplatina	56
4.2.3. Resposta da piridostigmina sobre a redução de responsividade de CCh em tirar de fundo gástrico induzida por cisplatina em ratos	57
4.3. Respostas da pressão arterial	62
4.3.1. Resposta da pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina	62
4.3.2. Influência do treinamento físico sobre a pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina	63
4.3.3. Resposta da piridostigmina sobre a pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina	64
4.4. Respostas da frequência cardíaca	69
4.4.1. Resposta da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	69
4.4.2. Influência do treinamento físico sobre a frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	70
4.4.3. Resposta da piridostigmina sobre frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	71

4.5. Resposta da variabilidade da frequência cardíaca	75
4.5.1 Resposta da variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	75
4.5.2 Influência do treinamento físico sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	76
4.5.3 Resposta da piridostigmina sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina	77
4.6. Respostas do baroreflexo após administração de fenilefrina	78
4.6.1. Resposta do baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina	78
4.6.2. Influência do treinamento físico sobre o baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina	79
4.6.3. Resposta da piridostigmina sobre o baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina	80
4.7. Resposta do baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio	81
4.7.1. Resposta do baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	81
4.7.2. Influência do exercício físico sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	82
4.7.3. Resposta do tratamento com piridostigmina sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	83
4.8. Resposta tônus simpático	84
4.8.1. Resposta do tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina ..	84
4.8.2. Influência do treinamento físico sobre o tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	85

4.8.3. Resposta da piridostigmina sobre tónus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina	86
4.9. Respostas tónus parassimpático	87
4.9.1. Resposta do baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	88
4.9.2 Influência do exercício físico sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	88
4.9.3. Resposta do tratamento com piridostigmina sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina	89
4.10. Resposta da frequência intrínseca de marcapasso	90
4.10.1 Resposta da frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina	90
4.10.2 Influência do treinamento físico sobre a frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina	91
4.10.3 Resposta da piridostigmina sobre frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina	92
5. DISCUSSÃO	94
6. CONCLUSÕES	102
7. REFERÊNCIAS	104

Introdução

INTRODUÇÃO

1.1. QUIMIOTERAPIA

Segundo Bonassa (2005), a quimioterapia consiste no emprego de substâncias químicas, isoladas ou em combinação, com o objetivo de tratar as neoplasias malignas atuando em nível celular, interferindo no processo de crescimento e divisão, contudo sem especificidade, não destruindo seletivamente ou exclusivamente as células tumorais.

Os primeiros registros de tratamento quimioterápico datam do final do século XIX, com a descoberta da solução de Fowler (arsenito de potássio) por Lissauer em 1885 e da toxina de Coley (combinação de produtos bacterianos) em 1890. Durante a Segunda Guerra Mundial, foram identificadas substâncias citotóxicas, como o gás de mostarda, que despertaram interesse de farmacologistas clínicos a serviço do Pentágono norete-americano, que o utilizaram em pacientes com linfoma de Hodking e leucemia crônica obtendo regressão de curta duração (BONASSA, 2005; ALMEIDA, 2004).

Diversos compostos tem sido usados no tratamento do câncer. Atualmente são empregados para o tratamento oncológico, cerca de 50 agentes quimioterápicos. Entretanto pesquisadores estão sempre investigando não somente com o intuito de descobrir novos compostos, mas principalmente, de planejar esquemas com menor toxicidade e formas eficientes de prevenção de efeitos colaterais.

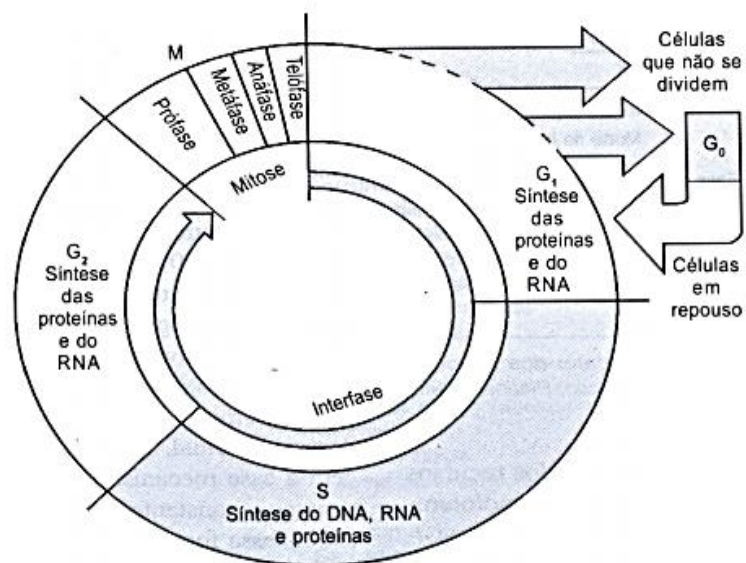
A carcinogênese é um processo de múltiplas etapas, esse processo inicia-se no núcleo celular a partir de comandos de proliferação celular desordenada. No núcleo celular encontra-se os genes, que irão participar do processo de divisão celular. Estes genes são compostos por moléculas de DNA (ácido desoxirribonucleico) que especificam as sequências de ligação dos aminoácidos para formarem uma determinada proteína. Que é responsável por realizar determinado efeito biológico no gene (BRENNAN; SYRJANEN, 2003)

Duas classes de genes são responsáveis por proliferação desordenada presente nos tumores apresentados pelo homem. Esses genes em sua função normal coordenam o ciclo celular em toda sua sequência de eventos, para que as células cresçam e se dividam (CHEN; HUNTER, 2005)

O ciclo celular, tanto para células normais quanto para células neoplásicas é composto de quanto fases distintas, como descritas a seguir:

- G1: a célula tem seu tamanho aumentado e prepara-se para replicar seu DNA;
- S: também chamada de síntese, fase em que ocorre a replicação do DNA, permitindo que a célula duplique seu material genético;
- G2: após a replicação, a célula se prepara para a próxima fase, a mitose (M);
- M: fase em que a célula-mãe aumentada, se divide em duas células-filhas, com igual número de cromossomos e imediatamente estas duas células entram em fase G1 e podem reiniciar o ciclo celular.

Figura 1: Fases do ciclo celular



Fonte: Baquiram e Gallagher (1998)

A diferença entre a divisão desses dois tipos celulares está no fato das células normais se dividirem para suprir necessidades do organismo, havendo um equilíbrio entre as células que nasceram e as que morreram.

As células tumorais têm um crescimento acelerado e desordenado no início, seguido por uma fase em que a aglomeração celular passa a sofrer com a falta de nutrientes e de espaço para continuar o crescimento.

Os agentes quimioterápicos são tóxicos para os tecidos de rápida proliferação, caracterizados por ciclos celulares curtos. Deste modo, são mais eficazes quando utilizados mais precocemente. (SCHAFER,1996; BONASSA, 2005).

A classificação dos quimioterápicos pode ser feita de acordo com sua estrutura química e função ou de acordo com sua especificidade no ciclo celular. De acordo com sua estrutura química e função, os quimioterápicos classificam-se em agentes alquilantes, antimetabólicos, antibióticos antitumorais, nitrosuréias, alcaloides da vinca, podendo-se incluir aqui também os medicamentos hormonais (ANELI, 1996; BONASSA, 2005; RIUL, 1995).

Agentes alquilantes são os quimioterápicos capazes de causar alterações nas cadeias do DNA celular, impedindo sua replicação em qualquer fase do ciclo, isto é, células em repouso ou em processo de divisão ativa. Principais exemplos de agente alquilantes: mostarda nitrogenada e derivados (mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucil), etilenamina, epóxidos (dibromomanitol, dibromocitrol), alquil sifonatos (bussulfan), nitrosuréias (carmustine, lomustine, streptomizicín), diaquiritriazenas (dacarbazina), streptozocina, ifosfamida, melfalan, cisplatina, estramustina, melfalano, tiopeda, semustina, dacarbazina, carboplatina.

Os agentes antimetabólicos são aqueles que estruturalmente se assemelham aos metabólicos naturais, essenciais ao funcionamento celular, incorporando-se à célula e transmitindo mensagens errôneas, bloqueando assim a produção de enzimas necessárias à síntese de substâncias fundamentais ou interpondo-se às cadeias do DNA e RNA, especialmente na fase "S" da divisão celular, quando se dá a síntese de DNA. Principais exemplos de agente antimetabólicos: metotrexato, são análogos da purina (6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina), análogos da pirimidina (5-fluorouracil, citosin-arabinosídeo).

Os antibióticos antitumorais são agentes resultantes da fermentação de fungos que possuem propriedades citotóxicas, interferindo na síntese de ácidos nucleicos através da intercalação, impedindo a duplicação e separação das cadeias de DNA e RNA nesta fase específica do ciclo celular. Principais exemplos de antibióticos antitumorais: antacíclicos (doxorubicina, daunoblastina, epirubicina, idarubicina), bleomicina, mitomicina, mitoxotrona.

As nitrosuréias são agentes pertencentes ao grupo de quimioterápicos que têm, provavelmente, ação similar à dos agentes alquilantes, sendo, contudo, lipossolúveis

e passando assim pela barreira hematoliquórica. Algumas atuam em fases específicas do ciclo celular, outras não, sendo capazes de agredir células tanto em repouso como em processo de divisão ativa. Principais exemplos de nitrosuréias: carmustine, lomustine, streptomizicin.

Os alcalóides da vinca são inibidores mitóticos que atuam especificamente sobre células em fase de mitose, impedindo a formação dos microtúbulos, estruturas responsáveis pela polarização dos cromossomos, indispensável no processo de divisão celular. Principais alcalóides da vinca: grupo da vincristina e vimblastina, paclitaxel, teniposido e etoposido.

Agentes hormonais, algumas vezes, são utilizados na terapia do câncer com o objetivo de deter crescimento tumoral. Uma vez que, para crescer e funcionar, muitos tumores, a exemplo de vários tecidos, dependem dos níveis hormonais, principalmente aqueles tumores derivados de mama, próstata, útero e tireóide, a manipulação de hormônios tem a finalidade de inibir o crescimento desses tumores. Contudo, esta finalidade é mais paliativa do que curativa

1.2. EFEITOS ADVERSOS DOS QUIMIOTERÁPICOS

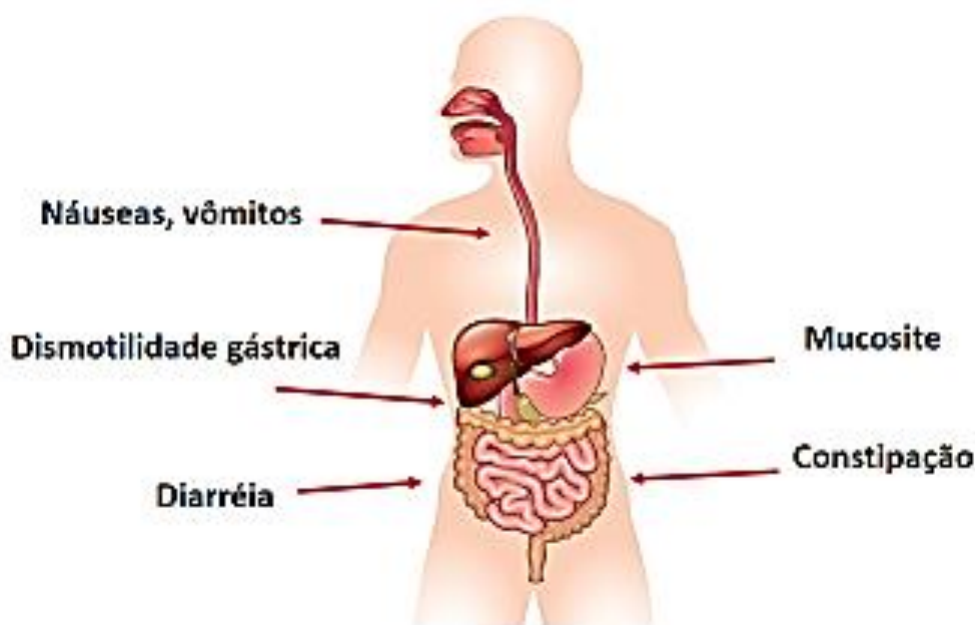
Por não possuírem especificidade, os quimioterápicos não agredem seletivamente ou exclusivamente as células tumorais. Essas drogas agredem também células normais quem possuem características comuns às células tumorais, ou seja, rápida proliferação, caracterizada por alta atividade mitótica e ciclo celular curto. Em função desta agressão às células normais se dá a toxicidade ou os efeitos colaterais dos quimioterápicos (BONASSA, 2005).

Os efeitos adversos relacionados ao tratamento com quimioterápicos relaciona-se ao fato da sua não-especificidade pelas células tumorais. Esses efeitos predominas nas células de rápida divisão celular, como as do tecido hematopoiético, do tecido germinativo, do folículo piloso e do revestimento gastrintestinal, e alguns outros órgãos que podem ser afetados em maior ou menos grau (BONASSA, 2005).

Cada quimioterápico possui seu perfil de toxicidade e efeitos colaterais, ressaltando-se a necessidade de abordagem terapêuticas farmacológicas ou não farmacológicas que previnam tais efeitos adversos.

Apesar da eficácia dos agente quimioterápicos no tratamento do câncer, estas podem afetar o funcionamento de células normais e causar efeitos colaterais como neuropatia periférica (....), disautonomia (....) e dismotilidade gastrintestinal (...). Os efeitos colaterais gástricos resultam em sofrimento do paciente e limitam o tratamento quimioterápico. Esse efeito, dentre outros, pode levar a diminuição da dose da droga ou interrupção do tratamento contra o câncer, conseqüentemente diminuindo a efetividade da terapia.

Figura 2: Complicações gastrintestinais associados aos antineoplásicos



Fonte: Adaptado de SELLIN & CHANG, 2008.

A toxicidade gastrintestinal dos quimioterápicos manifesta-se com náuseas e vômitos, mucosite, anorexia, diarréia e constipação intestinal. Estas variam de intensidade entre leve, moderada e severa (CALABRESI, 1991; WOODLOCK, 1995). As náuseas e vômitos, freqüentemente, constituem o efeito colateral mais incômodo e estressante referido pelos pacientes submetidos à quimioterapia antineoplásica. Sua ocorrência é atribuída à estimulação do centro controlador do vômito (centro emético) localizado no sistema nervoso central e sua intensidade guarda relação com o potencial emético da droga utilizada, bem como, com fatores adicionais como dose,

via de administração, velocidade de aplicação, combinação de drogas e ainda por reflexo condicionado (CALABRESI, 1991) A mucosite pós-quimioterapia deve-se à destruição das células de revestimento de todo o trato gastrointestinal pela ação dos quimioterápicos, uma vez que, essas células também apresentam um ciclo de vida curto e rápida proliferação com alta taxa de atividade mitótica. Esta agressão pode manifestar-se como ulcerações da mucosa oral, retal e anal, podendo ser leve, moderada ou severa; aparece entre dois a dez dias após a aplicação do quimioterápico e torna o paciente susceptível a infecções, necrose e sangramento (BRENDER, 1996) A anorexia apresentada pelos pacientes submetidos à quimioterapia deve-se a vários fatores associados a esta e entre si. Mudanças na musculatura e mucosa do estômago e intestino delgado retardam o processo digestivo, promovendo uma sensação de plenitude gástrica que interfere no apetite. Somados a este fato, estão a presença de náuseas e vômitos, freqüentemente de mucosite oral, alterações do paladar relacionadas a alguns quimioterápicos específicos, e ainda alterações psicológicas como medo, ansiedade, depressão e estresse (WOODLOCK, 1995; RIUL, 1999).

A diarreia frequentemente aparece como manifestação de toxicidade gastrointestinal, porque a ação dos quimioterápicos sobre as células deste trato provoca uma descamação da mucosa sem reposição adequada, fazendo com que a irritação, inflamação e alterações funcionais levem à diarreia (BRENDER, 1997). Quando intensa e associada aos demais efeitos colaterais dos quimioterápicos sobre o trato gastrointestinal, a diarréia pode agravar de forma significativa o estado geral do paciente predispondo-o a complicações como desidratação, desequilíbrio hidro-eletrólico, diminuição da absorção calórica, perda de peso e fraqueza (WOODLOCK, 1995; BRENDER, 1997). Ainda a constipação intestinal pode manifestar-se como toxicidade gastrointestinal dos quimioterápicos. Especificamente relacionada à quimioterapia, a constipação intestinal é antes uma neurotoxicidade, em que há diminuição da motilidade gastrointestinal devida à ação das drogas sobre o sistema nervoso do aparelho digestivo, levando mesmo a quadros de íleo parálítico. A constipação intestinal freqüentemente provoca anorexia, desconforto, dor e distensão abdominal. Quando prolongado, este quadro pode ainda provocar náuseas, vômitos e desequilíbrio eletrolítico. (CALABRESI, 1991; WOODLOCK, 1995; BRENDER, 1997).

A quimioterapia pode causar ainda disfunção autonômica, indicativa de neuropatia que afeta, indicativa de neuropatia que afeta o sistema nervoso autônomo. Existem evidências clínicas de disautonomia em paciente tratados com cisplatina ou vincristina. Os efeitos adversos mais relatados por pacientes em tratamento são: fadiga, náuseas vômitos, diarreia, constipação, hipotensão postural. (BOOGERD et al, 1990; EARL et al, 1998).

Muitas drogas quimioterápicas são conhecidas por causar dismotilidade, incluindo neste grupo os análogos platinos (cisplatina e caboplatina), os alcaloides da vinca (vincristina, vimblastina, vindesina e vinorelbina), taxol, talidomina e vários outros (WEN, 2003; WINDEBANK,1999; HARTUNG,2002).

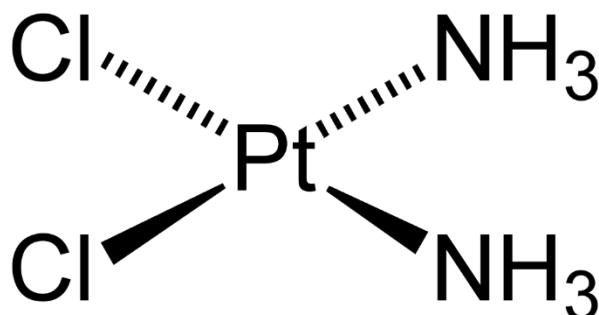
1.3. CISPLATINA

A cisplatina (cis-diamina-dicloro-platino [II]), foi descrita pela primeira vez, como um agente antineoplásico em 1965 por Rosenberg e colaboradores. Ao estudar os efeitos de campos elétricos sobre o crescimento bacteriano, Rosenberg observou que quando um campo elétrico era aplicado em eletrodos de platina imersos em uma solução aeróbica de *Escherichia Coli* crecendo na presença de NH_4Cl , as bactérias não se dividiam normalmente, mas adquiriam um crescimento filamentosos atingindo tamanho até 300 vezes acima do normal. Então, como os compostos de platina inibiam a divisão celular sem matar as bactérias, especulou-se que eles poderiam inibir o rápido crescimento de células tumorais, sem matar as demais células do tecido hospedeiro (SHERMAN e LIPPARD, 1987; ROSENBERG; MANSY; THOMPSON, 1983). A cisplatina está entre os agentes quimioterápicos mais frequentemente utilizados para o tratamento de uma ampla variedade de tumores malignos, como o câncer em ovários, peritônio, bexiga, pulmão, testículo e colo do útero (DECATRIS et al., 2004; NELSON et al., 2010; PEZZUOLO et al., 2010).

1.4. FARMACODINÂMICA E FARMACOCINÉTICA DA CISPATINA

A cisplatina é um fármaco de configuração plana, possuindo um átomo central de platina envolto por dois átomos de cloro e dois átomos de amônia.

Figura 3: Fórmula estrutural da cisplatina



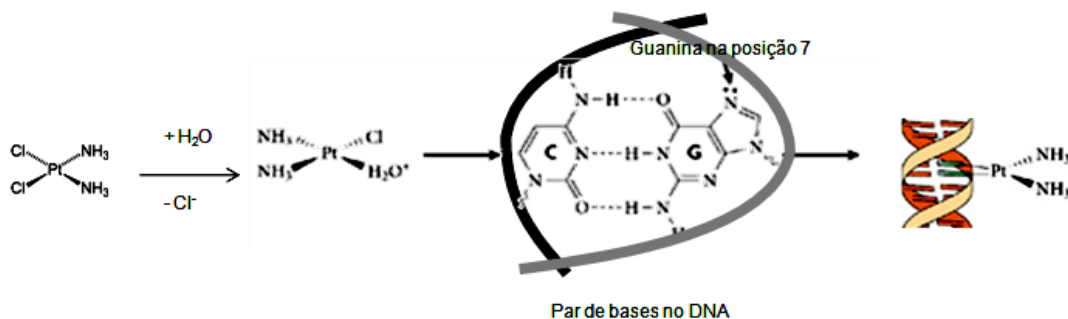
Fonte: Disponível em: www.researchgate.net

A presença de íon cloreto no plasma e nas células modula a reatividade da cisplatina *in vivo*. Sabe-se que o fármaco administrado por injeção intravenosa é ativado durante passagem pelas membranas celulares (ROSENBERG, 1985).

Uma vez no interior do plasma, os íons cloreto da molécula de cisplatina se dissociam da platina devido à baixa concentração intracelular de íons (0,145 M no meio extracelular e 3mM no meio intracelular), o que facilita esse processo, produzindo maiores quantidades de complexos aquosos, mais reativos (COHEN; LIPPARD, 2001). A hidrólise intracelular da cisplatina leva à formação dos metabólitos reativos: diaquo-diamino-platino e mono-cloro-mono-aquo-diamino-platino, capazes de alquilar bases pirimidínicas (SCHELLMANN, 2001).

A substituição do cloreto pela água fornece uma molécula carregada positivamente, capaz e ligar-se a neurófilos celulares do DNA e RNA e proteínas. Assim o efeito antineoplásico da cisplatina se dá através da troca de moléculas cloro em *cis* por água ou grupos hidroxil, dando origem a compostos altamente reativos. (LIPPARD, 1987; HALABE; WONG; SUTTON, 1991).

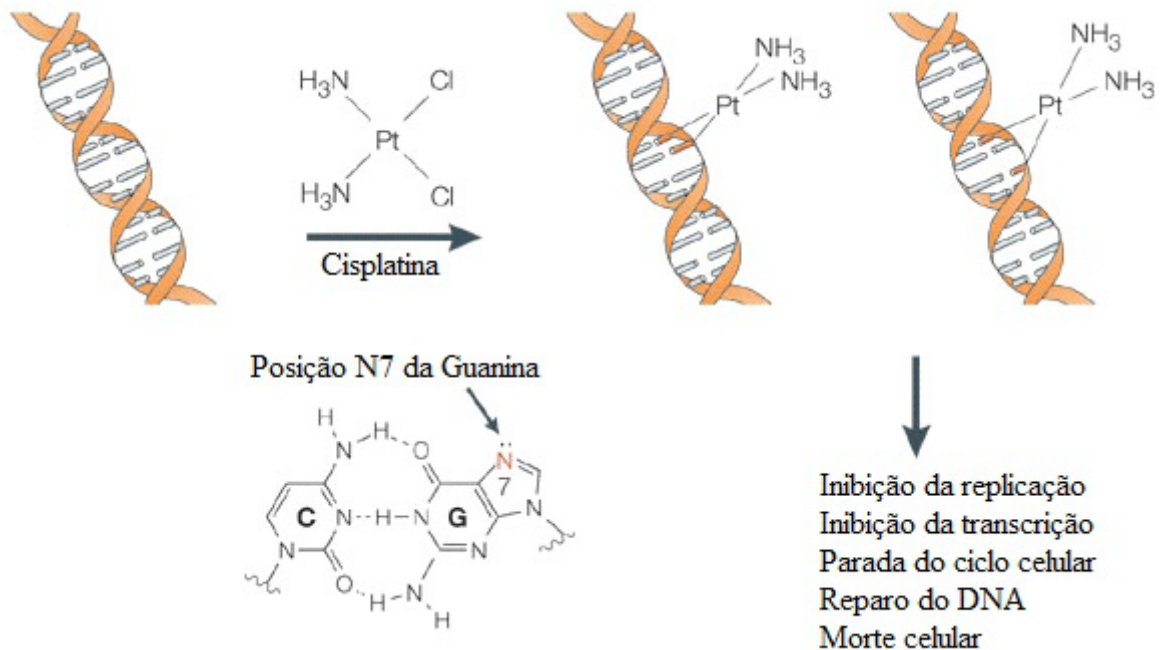
Figura 4: Estrutura e ativação da cisplatina



Fonte: disponível em: <http://qnint.sbq.org.br>

Os complexos de platina são capazes de reagir com o DNA, formando ligações cruzadas intra e interfilamentares, promovendo distorções na dupla hélice do DNA e impedindo sua replicação (ZWELLING; KOHN, 1979; SHERMAN; LIPPARD, 1987). Evidências experimentais indicam que os pontes DNA-cisplatina são os responsáveis pela morte das células em divisão (EASTMAN, 1999). A capacidade de cisplatina para induzir apoptose é efetivamente influenciada pelo fluxo de K⁺ celular. A redução das correntes de K⁺ dependentes de voltagem pela 27 cisplatina pode estar ligada à ativação de enzimas que levam a apoptose (MARKLUND *et al.*, 2001).

Figura 5: Ligação da molécula de cisplatina ao DNA



Fonte: MARKLUND *et al.*, 2001

Uma vez dentro da célula a cisplatina reage com a água. O átomo de platina liga-se covalentemente à posição N⁷ da purina formando ligações cruzadas 1, 2 ou 3 intrafilamentares e ligações cruzadas interfilamentares. Essas ligações ao DNA ocorrem em substituição aos íons cloreto da molécula original de cisplatina. Esses adutos cisplatina-DNA causam várias respostas celulares, tais como: inibição da replicação, inibição da transcrição, interrupção do ciclo celular, reparo do DNA ou apoptose (WANG; LIPPARD, 2005).

Embora a cisplatina (cis-diaminocloroplatina II) seja um efetivo agente antineoplásico, seu uso clínico é altamente limitado, predominantemente devido ao seu potencial nefrotóxico. Alguns autores já descrevem o uso de cisplatina com anterior administração subcutânea de solução salina em uma concentração de 0,9% para evitar nefrotoxicidade em ratos (CORNELISON *et al.*, 1993)

Dependendo da dose e do método de administração da cisplatina, a toxicidade limitante pode incluir nefrotoxicidade (CORNELISON, REED, 1993), neurotoxicidade (BOOGERD *et al.*, 1990; CANO *et al.*, 1998; ROELOFS *et al.*, 1984; THOMPSON *et al.*, 1984) e ototoxicidade (SMOORENBURG *et al.*, 1999), além de mielosupressão

(GANDARA *et al.*, 1991) e distúrbios gastrintestinais (CABEZOS *et al.*, 2008; CABEZOS *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 1995; PEZZUOLO *et al.*, 2010). Pode ainda causar náuseas, vômitos, anorexia e perda de peso. (CABEZOS *et al.*, 2010)

Vários estudos demonstram alterações gastrintestinais associadas ao uso da cisplatina. Pezzuolo *et al.*, (2010) relataram que 3% dos pacientes idosos com câncer de pulmão, que fizeram uso deste quimioterápico (20 mg/m², nos 3 primeiros dias de um 32 ciclo de 21 dias), tiveram como efeito colateral a toxicidade gastrintestinal. Nelson *et al.*, 1993 afirmaram que a cisplatina induz o vômito em 90% dos pacientes e retarde do esvaziamento gástrico que podem ser responsáveis, em parte, por anorexia, saciedade precoce e náuseas associadas ao tratamento do câncer. Estes problemas podem estar relacionados à disfunção do sistema nervoso autônomo (NELSON *et al.*, 2002). As alterações gastrintestinais relacionadas à cisplatina, em particular o comprometimento da motilidade, têm sido associados a uma possível neuropatia autonômica.

Nos estudos sobre a neuropatia autonômica induzida por cisplatina em roedores, a inibição dose-dependente no esvaziamento gástrico, refletida por acúmulo de alimento no estômago, anorexia e dismotilidade gastrintestinal (BRADNER, 1981; CABEZOS *et al.*, 2008; CABEZOS *et al.*, 2010) estão associados à disfunção autonômica.

1.5. DISFUNÇÃO AUTONÔMICA

O sistema nervoso autônomo é o efetor de um sistema homeostático maior, cujos “painéis de controle” ficam situados em vários núcleos do tronco encefálico, do hipotálamo e do prosencéfalo basal e são supridos de sinais contínuos de todas as partes do organismo. (JACOMINI, 2007).

O sistema nervoso humano tem dois componentes básicos que, embora anatomicamente separados, estão funcionalmente interconectados: o sistema nervoso central, composto pelo cérebro e medula espinhal, e o sistema nervoso periférico, formado por grupos de neurônios, designados gânglios, e pelos nervos, que saem do cérebro e da medula espinhal. (BERNARROCH, 1993) O sistema nervoso periférico é dividido em somático e autônomo: a parte somática é responsável, principalmente, pelas informações sensoriais sobre o meio físico que nos cerca, como

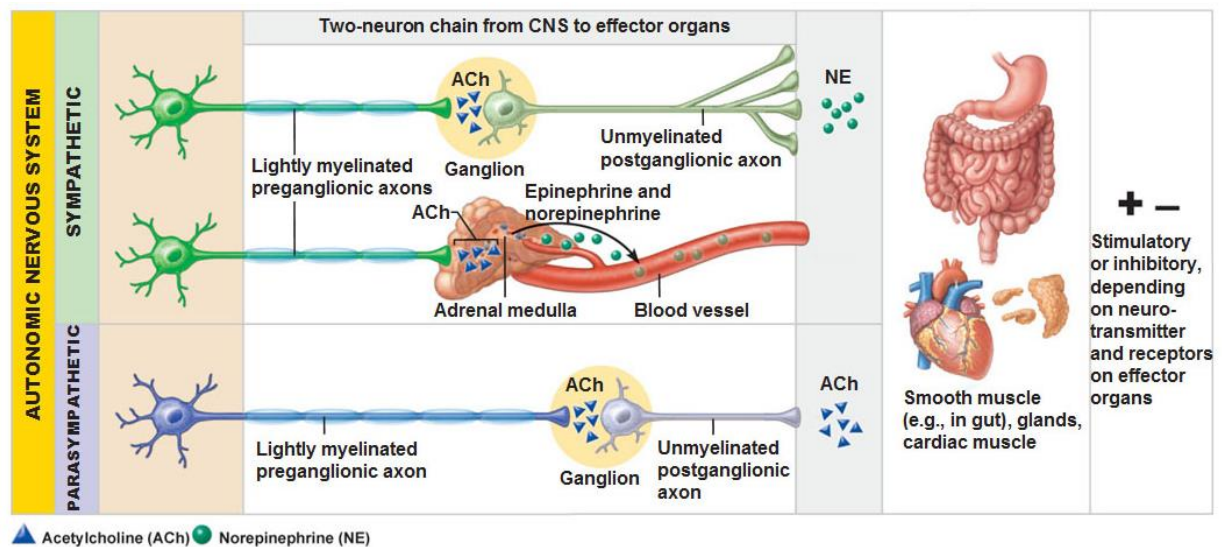
também pela posição dos músculos e dos membros inferiores. A divisão autônoma (sistema nervoso autônomo) é, na verdade, o sistema motor das vísceras, musculatura lisa do corpo (especialmente dos vasos) e das glândulas exócrinas. O sistema nervoso autônomo é composto por três partes distintas, ou seja, os sistemas simpático, parassimpático e nervoso entérico. O sistema simpático é fundamental no controle das reações do corpo ao estresse, enquanto o parassimpático restaura e mantém as condições de equilíbrio e repouso. O sistema nervoso entérico controla as funções dos intestinos. Os órgãos e sistemas governados pelo sistema nervoso autônomo funcionam, em geral, independentes de nossa vontade, embora algumas vezes possam ser afetados por impulsos voluntários ou emocionais. Incluem os sistemas cardiorrespiratório, gastrointestinal e geniturinário. O sistema nervoso autônomo é vital na manutenção da homeostase, porque regula a pressão arterial, o balanço hidroeletrólítico e a temperatura corporal. (GRUBB et al, 2000)

As terminações nervosas do SNA têm como alvo fibras musculares (lisas na maioria, estriadas no coração) e células glandulares e coordenam as funções de diferentes órgãos e sistemas do corpo. Tanto a divisão simpática como a parassimpática apresentam uma sinapse entre o neurônio central e o alvo periférico: a sinapse ganglionar. O neurotransmissor da sinapse ganglionar é geralmente a acetilcolina nas duas divisões. (JACOMINI, 2007).

Alguns quimioterápicos possuem a capacidade de induzir disfunção autonômica secundária devido a sua utilização a longo prazo. Dentre os principais sinais clínicos de disfunção autonômica está a redução do esvaziamento gástrico. Essa redução está associada a comprometimento no nervo vago. Os distúrbios da motilidade colônica se manifestam por diarreia ou constipação. A constipação intestinal, mais freqüente que a diarreia, é raramente relatada espontaneamente pelo paciente (FOSS-FREITAS, 2008).

A disautonomia é caracterizada pelo aumento da atividade simpática e diminuição da atividade parassimpática, esta disfunção acarreta em aumento da retenção gástrica causada por hiperatividade simpática e diminuição da atividade vagal. Além de repercussões gastrintestinais, a disfunção autonômica também leva a alterações no sistema cardiovascular como aumento da pressão arterial, diminuição da resposta baroreflexa e diminuição da variabilidade da frequência cardíaca.(MOSTARDA et al, 2009)

Figura 6: Influência do sistema nervoso autônomo no trato gastrointestinal e sistema cardiovascular.

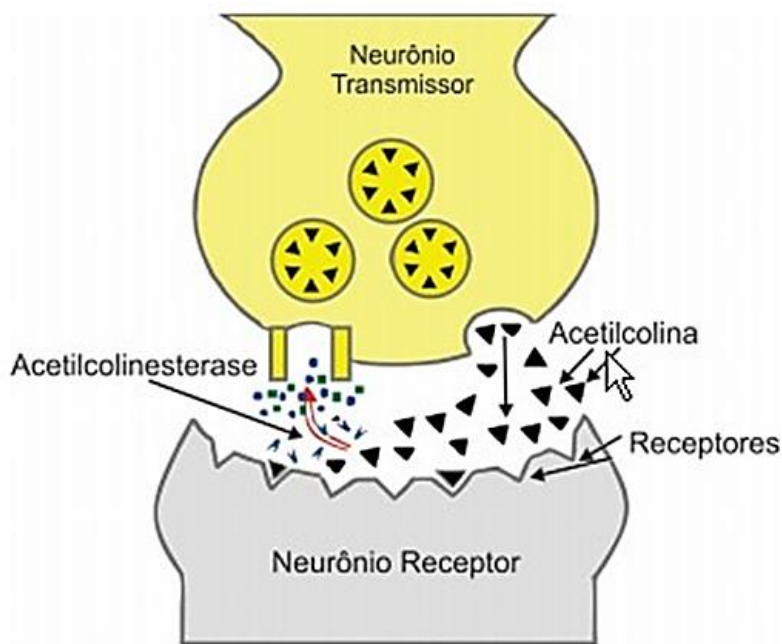


Fonte: Adaptado de LOW, 2018.

1.6. PIRIDOSTIGMINA

No Sistema Nervoso Periférico, os inibidores da enzima acetilcolinesterase agem elevando a atividade da acetilcolina nas sinapses pós-ganglionares parassimpáticas, aumentando a secreção de glândulas salivares, lacrimais, gastrointestinais e brônquicas, causam bronquiconstricção, hipotensão, bradicardia, queda da pressão intraocular e aumentam a atividade peristáltica (CUMMINGS, 2000).

Figura 7: Terminal sináptico



Fonte: Adaptado de Colasso, 2013.

Além da utilização farmacológica de agonistas muscarínicos para aumentar a disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica, drogas anticolinesterásicas, podem exercer o mesmo efeito, visto que impedem a hidrólise da acetilcolina pela acetilcolinesterase (TAYLOR, 2001). Estudo observou que a donepezila, agente anticolinesterásico capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, reproduziu os efeitos benéficos da estimulação elétrica da função parassimpática, ou seja, preveniu o remodelamento cardíaco, reduziu os níveis de noradrenalina e melhorou a função cardíaca (Okazaki e cols 2010). Entretanto, os autores sugeriram que o efeito do anticolinesterásico necessita ser mais estudado (OKAZAKI *et al.*, 2010).

Outro agente anticolinesterásico é a piridostigmina, que é um composto amônio quaternário, o qual inibe a hidrólise da acetilcolina por meio de uma ligação reversível, desta forma a piridostigmina prolonga a ação do neurotransmissor na fenda sináptica (TAYLOR, 2001). Outra importante característica da piridostigmina é que ela não atravessa a barreira hematoencefálica, devido ao seu grupamento amônio

quaternário, com isso sua ação é observada, apenas, periféricamente. Apesar, do possível efeito benéfico desta droga em doenças cardíacas caracterizadas por um desequilíbrio autonômico, poucos estudos têm investigado o efeito da piridostigmina sobre os efeitos colaterais causados pelo uso de cisplatina.

Estudos demonstraram que a estimulação colinérgica pela piridostigmina promoveu bradicardia, e não alterou PA e função cardíaca (CASTRO *et al.*, 2000; DEWLAND *et al.*, 2007), mas reduziu a dispersão do intervalo QTc em indivíduos saudáveis (CASTRO *et al.*, 2000). Baseado nestas evidências, sugerimos que a piridostigmina pode reverter o quadro de dismotilidade causado pelo antineoplásico. Assim, estudo subsequente demonstrou que 2 horas após a administração de piridostigmina houve uma redução da FC e da dispersão do intervalo QTc em pacientes com doença coronariana (CASTRO *et al.*, 2002). Outra importante resposta foi que o tratamento com piridostigmina por 48 horas (3 vezes/dia) reduziu o número de arritmias e melhorou variabilidade da FC, indicando um aumento da modulação vagal em pacientes com IC (BEHLING *et al.*, 2003). Além disso, uma única dose de piridostigmina promoveu em pacientes com doença coronariana uma maior resistência ao exercício físico (CASTRO *et al.*, 2004) e uma melhor recuperação da FC e redução do intervalo QTc após o exercício físico (ANDRONE *et al.*, 2003; CASTRO *et al.*, 2006). Maior tolerância ao exercício físico foi observado também em pacientes com IC tratados por 24 horas (3 vezes/dia) com piridostigmina (SERRA *et al.*, 2009). Estes resultados demonstram que a estimulação aguda da função parassimpática pela piridostigmina promoveu uma melhora funcional e no controle autonômico em diferentes condições fisiológicas em indivíduos saudáveis e em pacientes com doenças cardiovasculares.

Apesar destas evidências sobre o efeito da piridostigmina no sistema cardiovascular em diferentes condições fisiológicas, pouco se sabe a respeito do efeito do tratamento crônico com piridostigmina.

A piridostigmina melhora as respostas autonômicas e hemodinâmicas durante o exercício em pacientes com doença arterial coronariana, (CASTRO *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2006; SERRA *et al.*, 2009), e previne a disfunção miocárdica induzida pelo stress mental (NOBREGA *et al.*, 2001).

1.7. EXERCÍCIO FÍSICO E TRATO GASTRINTESTINAL

De acordo com a literatura, o exercício físico pode ser definido como qualquer atividade planejada e estruturada que leve a um aumento do gasto energético e da frequência cardíaca (GOMES *et al.*, 2012). O exercício regular fornece benefícios importantes para a saúde porque reduz o risco de doenças cardiovasculares e endócrinas, estimula o desenvolvimento saudável de ossos e músculos e diminui a ansiedade e a depressão. No entanto, o benefício do exercício sobre o sistema gastrointestinal não é totalmente esclarecido (BI; TRIADAFILOPOULOS, 2003).

Durante a prática de exercícios físicos, ocorre à redistribuição do volume sanguíneo em direção aos órgãos e sistemas de maiores necessidades metabólica deixando outras áreas com suprimento sanguíneo limitado. Frente a atividades físicas mais intensas, o próprio trato gastrointestinal é submetido a uma situação isquêmica, fazendo com que cerca de 20-50% dos atletas relatem sinais e sintomas gastrintestinais como náuseas, vômitos, sangramento nas fezes, azia, câibras e diarreia (FREITAS, 2013).

Somado a isso, a prática de exercícios prolongados resulta em sintomas gastrintestinais e interrupção da motilidade pós-prandial, fato esse que é dependente do tipo de alimento e tipo de exercício (PETERS *et al.*, 2002). De acordo com Leiper *et al.*, (2005), o exercício intermitente com corridas e caminhadas intercaladas tende a promover uma diminuição do esvaziamento gástrico de refeições a base de carboidratos.

Uma das possíveis hipóteses para as causas destes sintomas gastrintestinais é a redução do fluxo sanguíneo intestinal que ocorre devido à ação das catecolaminas sobre os receptores α -adrenérgicos, causando vasoconstrição dos leitos vasculares, e uma ativação do sistema renina-angiotensina, induzida pela hipovolemia, provocada pela desidratação decorrente do exercício (LIRA *et al.*, 2008). Outros efeitos também são causados pela diminuição do fluxo sanguíneo durante o exercício prolongado e exaustivo e o estresse térmico. Entre esses efeitos estão: alterações na homeostase hidroeletrólítica, hipóxia, acidose, depleção de ATP e estresse oxidativo (LAMBERT, 2004). Estes efeitos podem romper as junções firmes e causar danos ao enterócito, produzindo disfunção da barreira intestinal, aumentar a permeabilidade de moléculas indesejáveis e, provavelmente, incitar uma resposta inflamatória (LAMBERT, 2009).

Os efeitos do exercício físico sobre a saúde geral são bem descritos, principalmente sobre o sistema cardiovascular e metabolismo. (BOOTH *et al.*, 2002). Já é sabido que quando praticado regularmente, os exercícios proporcionam uma série de benefícios à pacientes em tratamento de câncer, sendo observado: redução da fadiga (causada principalmente pela medicação), redução de náuseas, melhora da força muscular, melhor controle de peso, melhora da capacidade aeróbica e, principalmente, observa-se uma melhora na qualidade de vida do paciente (BIANCHINI *et al.*, 2002).

Outro ponto importante, contudo, que não se tem muitos relatos relacionados, refere-se às alterações da motilidade gastrointestinal em tratamento de câncer com administração de cisplatina, e mais particularmente como a prática regular de exercício físico pode de alguma maneira modular tais repercussões. Nesse contexto, tal projeto se justifica pelo fato de se tentar elucidar inicialmente como se comporta a motilidade gastrointestinal com uso de cisplatina e em um segundo momento tentar elucidar os possíveis mecanismos envolvidos, inclusive, através de associação de piridostigmina e exercício físico regular.

Objetivo

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Investigar o efeito do exercício físico e da piridostigmina sobre o esvaziamento gástrico e a sensibilidade ao barorreflexo induzida por cisplatina em ratos.

2.2. Objetivos específicos

- Estudar a influência do exercício físico aeróbico e da piridostigmina sobre a dismotilidade gástrica induzido por cisplatina em ratos.
- Caracterizar o efeito do exercício físico aeróbico e da piridostigmina sobre alterações de contratilidade de fundo gástrico induzida por cisplatina em ratos.
- Estudar o efeito do exercício físico aeróbico e da piridostigmina sobre as alterações de sensibilidade ao barorreflexo induzida por cisplatina em ratos.
- Investigar a influência do exercício físico e da piridostigmina sobre balanço autonômico simpático e parassimpático em ratos tratados com cisplatina.

Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

Utilizamos cânulas de polietileno (PE 10 e 50 Clay Adams®), para confecção de cânulas necessárias para canulação da artéria e veia femoral dos animais; sistema eletrônico de aquisição de dados biológicos (PowerLab ADInstruments®), fio cirúrgico, computador, lupa cirúrgica, materiais cirúrgicos, leite de microplacas, centrífuga refrigerada, baldes, pesos de chumbo para natação, entre outros equipamentos laboratoriais.

3.2. FÁRMACOS E REAGENTES

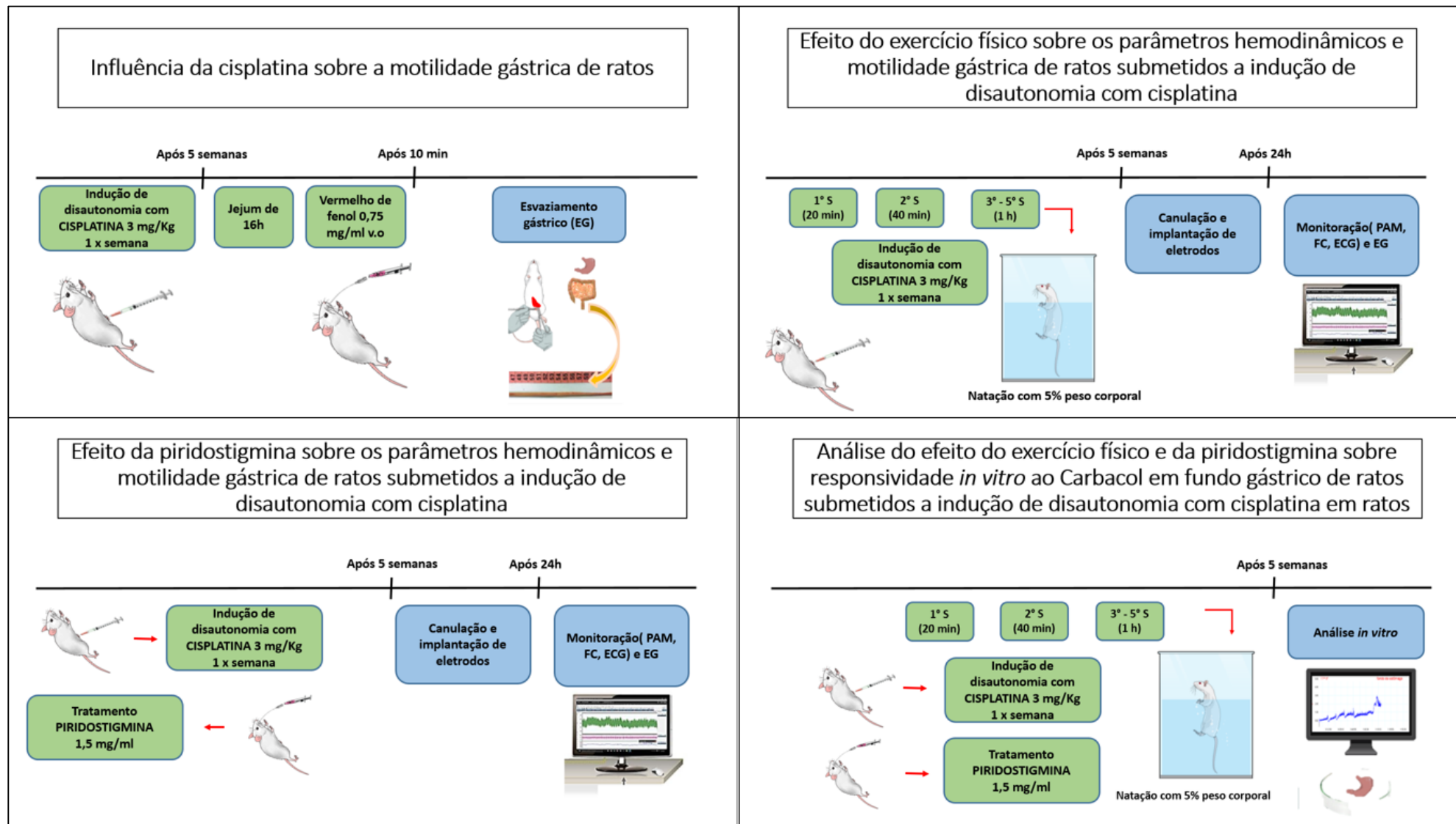
Os reagentes utilizados foram o vermelho de fenol (marcador), NaOH (hidróxido de sódio), TCA 20% (ácido tricloroacético). Anestésicos: Quetamina, Xilazina, Tiopental sódio. Foram usados fármaco: Cisplatina, Piridostigmina e também o carbacol (agonista colinérgico)

3.3. ANIMAIS

Os experimentos foram realizados com ratos machos Wistar, pesando entre 200-280g, mantidos sob ciclo de 12h luz/escuro, recebendo comida e água *ad libitum*. Todos os procedimentos cirúrgicos e manipulação de animais foram conduzidos de acordo com o guia para cuidado e uso de animais de laboratório o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Todos os procedimentos foram realizados em conformidade com as normas éticas do Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e com aprovação do Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA/UFPI), sob o número 431/18.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal da Universidade Federal do Piauí, procurando atenuação de som e mantendo-se a temperatura em estabilidade com ar-condicionado (22°- 25°C).

Figura 8: Representação esquemática de delineamento experimental utilizado.



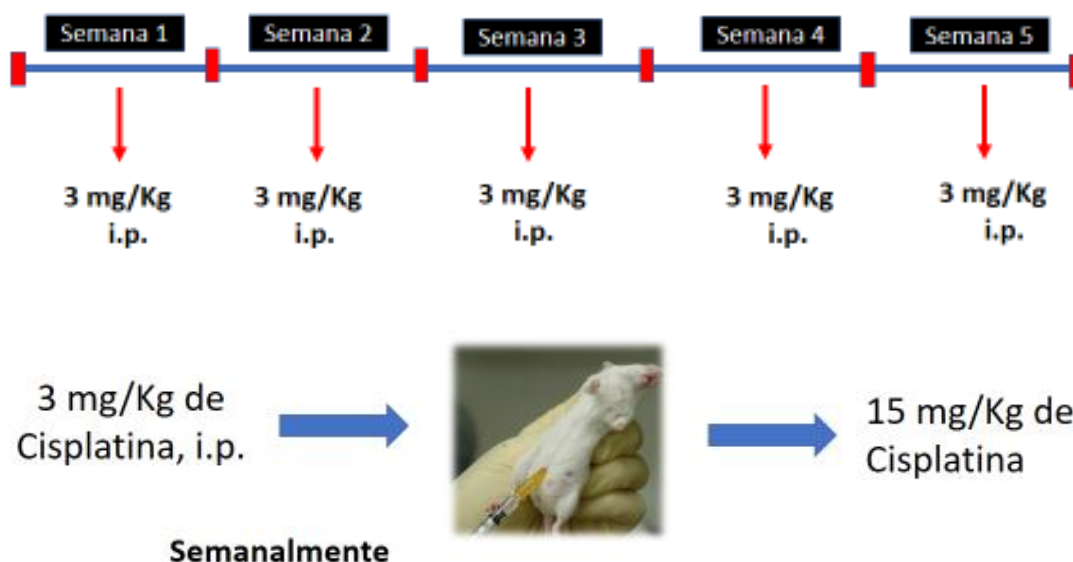
3.4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

3.4.1 Indução da Dismotilidade Gástrica pela Cisplatina

Para estes experimentos foram utilizados protocolos de tratamento semelhantes aos descritos por Abalo *et al.*, 2009 e Cabezos *et al.*, 2010 para indução de dismotilidade gástrica pelo uso cônico de cisplatina em ratos.

A cisplatina (Citoplax® 50mg, Laboratório Químico Farmacêutico Bergamo Ltda S/A, São Paulo-SP), cuja concentração é 1mg/ml, foi administrada por via intraperitoneal na dose de 3 mg/Kg, uma vez por semana, durante cinco semanas. Para evitar eventual nefrotoxicidade pela administração crônica do antineoplásico, 2mL de solução salina 0,9% foi injetado via subcutânea após a administração de cisplatina (AUTHIER *et al.*, 2003). A toxicidade sistêmica da droga foi avaliada pela perda de peso, fraqueza, alopecia, diarreia e morte do animal.

Figura 9. Esquema de dosagem para indução de dismotilidade gástrica pela administração de cisplatina em ratos



Fonte: Autoria própria, 2019

3.4.2 Tratamento com piridostigmina

Os animais do grupo Salina+Piridostigmina e Cisplatina+Piridostigmina receberam brometo de piridostigmina (Valent Farmacêutica do Brasil Ltda, Campinas, SP, BR). O fármaco foi diluído em água destilada em uma concentração de 1,5 mg/ml e foi administrado via oral 1ml/100g de cada animal. Esta abordagem medicamentosa foi realizada diariamente durante cinco semanas, sempre no mesmo horário, às 12h da manhã, seguindo as recomendações da literatura (HAAREN *et al.*, 1998)

3.4.3 Protocolo de exercício físico

No período de cinco semanas, os ratos selecionados foram submetidos ao exercício de natação em estilo livre em um tambor de plástico circular (diâmetro, 120 cm; profundidade, 90 cm) com água mantida a uma temperatura de 32 +/- 2°C. O exercício consistirá em natação diária por 60 minutos, cinco dias por semana, durante cinco semanas. Na primeira semana de exercício, os animais foram submetidos a um período de adaptação a natação sem pesos. No primeiro dia de adaptação, a duração da sessão é de 20 minutos, no segundo dia 40 minutos. Após o período de adaptação, os ratos foram submetidos ao exercício de natação com uma carga de trabalho (5% do peso corporal), para melhorar a resistência (LIMA *et al.*, 2018).

Os ratos do grupo sedentário foram colocados em um tanque separado com água rasa (5cm de profundidade) a 32°C +/- 2°C, 5 dias/semana apenas para eliminar o eventual estresse da água. Durante essas cinco semanas os ratos receberam tratamento com cisplatina ou salina uma vez por semana.

Figura 10. Protocolo de exercício físico (5% p.c.)



Fonte: Autoria própria, 2018

3.4.4 Avaliação do esvaziamento gástrico

A avaliação do esvaziamento gástrico foi realizada 48h após as 5 semanas de tratamento com cisplatina ou salina nos grupos salina, cisplatina, exercício, cisplatina+exercício, piridostigmina e cisplatina+piridostigmina.

A determinação do esvaziamento gástrico foi realizada a partir da técnica de diluição de corante (vermelho fenol), descrita por Reynell e Spray (1956). Após a canulação femoral e implantação de eletrodos, já descritos, os animais foram submetidos a um jejum de 16 horas de sólido, mas com livre acesso à água. No dia posterior os animais foram monitorados quanto a pressão arterial, eletrocardiograma e frequência cardíaca. Ao fim da monitoração iniciou-se o protocolo de esvaziamento gástrico de líquidos, onde os animais receberam mediante sonda orogástrica (gavagem) 1,5 mL da refeição teste (solução glicosada a 5% contendo vermelho fenol, 0,75mg/ml). Após um período pós-prandial de 10 minutos os ratos foram eutanasiados via overdose letal de anestésico (tiopental 30mg/kg, i.v). A seguir, executou-se uma laparotomia mediana, com auxílio de material cirúrgico, para retirada do estômago e intestino delgado foram feitas ligaduras nas junções gastroduodenal, esôfago-gástrica e íleo-cecal, que em seguida foram levemente estendidos sobre a bancada, posteriormente foi realizada divisão do intestino delgado em três segmentos: proximal,

parte inicial (40%), medial (30%) e distal, parte final, (30%). Em seguida, foi realizada a verificação do volume do estômago e de cada segmento do intestino, onde os mesmos foram colocados em uma proveta graduada contendo 100 mL de Hidróxido de Sódio (NaOH 0,1N). A seguir, os segmentos foram homogeneizados com auxílio de liquidificador manual, após homogeneização foram coletados através de auxílio de pipeta graduada 10 mL do sobrenadante e centrifugados a (2800 rpm por 10 minutos). Ao fim da centrifugação foram coletados 5 mL do sobrenadante, que foi adicionado a 500 µL de Ácido Tricloroacético (TCA – 20%), que é uma solução precipitante de proteínas, após isso foi levado a centrífuga novamente a (2800 rpm por 20 minutos). Ao fim de mais uma centrifugação coletamos 3 mL da amostra e adicionados a 4 mL de Hidróxido de sódio (0,5N) para determinação final da absorbância das amostras pelo método colorimétrico, com o auxílio de um leitor de Elisa (Spectronic 20 Genesis), em comprimento de onda de 550nm.

A determinação da retenção de vermelho fenol em cada segmento foi calculada a partir das seguintes fórmulas: Retenção do segmento “X” = (volume da víscera + 100) x absorbância da víscera.

$$\text{Retenção fracional do Segmento X} = \frac{\text{Retenção Segmento (X)} \times 10}{\text{Retenção no Estômago} + \text{Retenção Intestino}}$$

3.4.5 Avaliação da responsividade ao carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos

A fim de investigar o efeito da Cisplatina sobre a responsividade de tiras isoladas de fundo gástrico e avaliar qual o efeito do exercício e da piridostigmina sobre o mesmo. Após o fim destes protocolos iniciou-se o protocolo para responsividade, onde os ratos foram eutanasiados via overdose letal de anestésico Tiopental (50mg/kg), sendo logo a seguir submetidos à laparotomia e remoção do estômago, em seguida foram livres de tecido conectivo e adiposo, com auxílio de pinças cirúrgicas. Tiras isoladas do fundo gástrico dos ratos foram montadas em câmaras para preparações isoladas de músculo liso, sendo mantidas, de acordo com a metodologia de Paton (1957), em solução de Tyrode a 37 °C, pH 7,4 e constantemente oxigenada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂). A tensão basal aplicada aos tecidos foi de 1 g.

As tiras de fundo gástrico foram acopladas a alças de aço inoxidável e suspensas por linhas de algodão fixadas a um transdutor de tensão acoplado a um amplificador de sinal (AECAD 1604, software AQCAD 2.3.6, AVS Projetos, SP) para o registro das tensões isométricas e conectado a um computador para o armazenamento dos dados. Durante este tempo, as soluções nutritivas foram trocadas a cada 15 min, durante 1h, para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970) Encerrando a lavagem e após estabilização iniciou-se o protocolo de responsividade ao carbacol (CCh) com concentrações cumulativas de (1nM, 10nM, 100nM, 1µM, 10µM e 100 µM) no fundo gástrico dos ratos pertencentes aos grupos experimentais já descritos.

Figura 11: Sistema *in vitro* utilizado. Transdutor de tensão acoplado a uma amplificador de sinal



Legenda: (AECAD 1604. Software AQCAD 2.3.6, Bonther, SP). Fonte: NPPM, 2019

3.4.6 Procedimento cirúrgico para canulação da artéria e veia femoral e implantação de eletrodos para registro de eletrocardiograma (ECG)

Vinte de quatro horas após a última sessão de treinamento ou último dia de administração de piridostigmina, os animais foram anestesiados com quetamina (100 mg/kg de peso, i.m.) xilazina (5 mg/kg de peso, i.m.). Em seguida os animais foram colocados em uma superfície plana com a região ventral virada para cima, foi feita

uma incisão na pele, na fossa ilíaca esquerda do animal e com auxílio de material cirúrgico foi separado a musculatura para localização do feixe vâsculo-nervoso femoral e então foi feita a dissecação da artéria e veia femoral. Em seguida um pequeno corte foi feito na veia femoral, a cânula de polietileno (PE-10 fundida ao PE-50, Intramedic, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) foi introduzida e cuidadosamente fixada na veia com auxílio de linha de costura. A artéria femoral foi canulada em seguida. A cânula implantada na veia foi utilizada para administração de drogas e a cânula implantada na artéria foi utilizada para registro da Pressão artéria pulsátil de cada animal. Após esse procedimento, as cânulas foram exteriorizadas na região dorsal do animal através de um trocáter. Após feita a canulação da artéria e veia femoral, era iniciada a cirurgia de implantação de eletrodos para registro de ECG. Neste protocolo foram implantados 3 eletrodos subcutâneos na face ventral do animal, sendo 2 na região torácica e 1 na pata direita traseira, após a implantação os eletrodos foram exteriorizados para a região dorsal do animal com auxílio do trocáter e foram suturados em ponto a ponto na camada externa.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante todo o período pós operatório, permitindo a recuperação dos efeitos dos anestésicos por um período de 24h.

A partir do registro do eletrocardiograma, foram avaliados o intervalo R-R” que serviu para derivação da frequência cardíaca (batimento a batimento) bem como estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC).

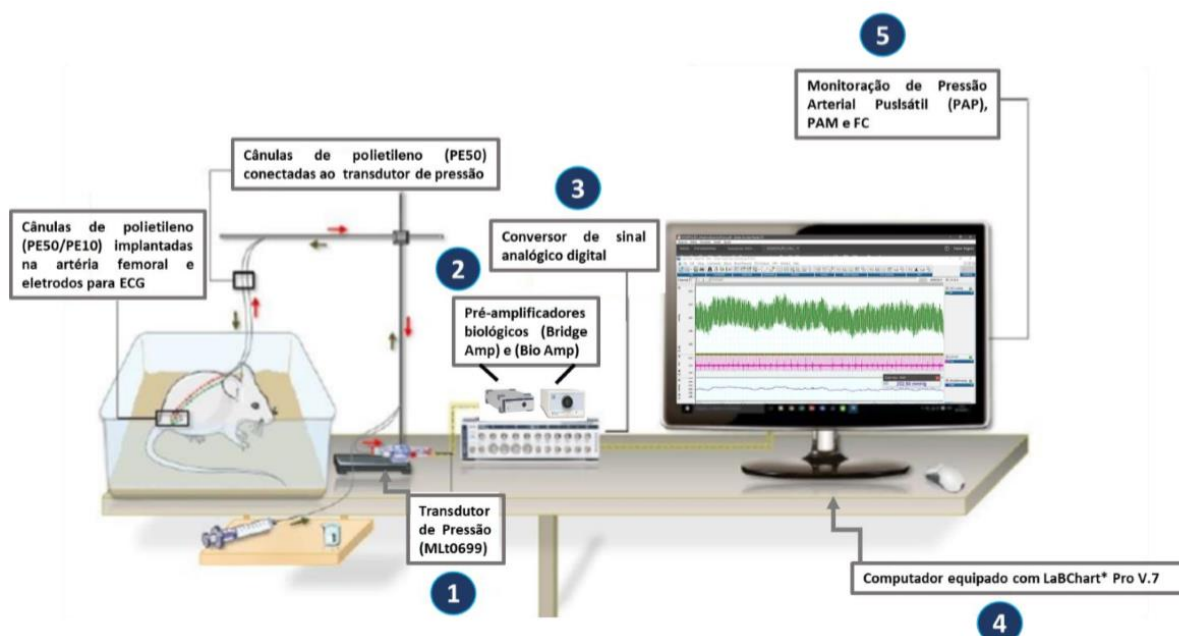
3.4.7 Avaliação direta da PAM e FC através do sistema Powerlab

O registro da PAM foi feito realizado após 24 dos procedimentos cirúrgicos de canulação em todos os grupos estudados. A avaliação da pressão arterial média (PAM) foi realizada através do registro da pressão arterial pulsátil nos ratos através das cânulas conectadas à artéria femoral. O registro da frequência cardíaca foi realizado através do eletrocardiograma, onde os eletrodos implantados nos ratos foram acoplados ao sistema computadorizado de aquisição de dados (PowerLab).

A PAM foi monitorada por um transdutor de pressão a um sistema computadorizado de aquisição de sinais biológicos Bridge Amp (Powerlab 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0). Através do transdutor o sinal era processado para obter-se a PAM, que foi calculada a partir de pulsos de pressão. O registro da

freqüência cardíaca (FC, em bpm) foi obtido a partir da conexão dos três fios metálicos a um bioamplificador (Bio Amp), também ligado ao sistema de aquisição de sinais biológicos para o registro contínuo do eletrocardiograma. Estes parâmetros eram apresentados simultaneamente em canais diferentes do monitor e armazenados no disco rígido do computador. Cada animal foi monitorado acordado e com movimentação livre na gaiola, por 30 minutos. Para avaliação da PAM e da FC foi realizada a média a partir de 1000 pontos do registro de pressão de cada animal.

Figura 12: Foto ilustrativa do sistema Power 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0)



Legenda: Bridge Amp e Bio Amp (PowerLab 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0) Fonte: Adaptado e modificado de Lima, 2018.

3.4.8 Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)

Após concluída as 5 semanas de treinamento físico e administração de piridostigmina e realizada a implantação dos eletrodos para registro dos eletrocardiograma (ECG) como descrito anteriormente, derivamos o intervalo R-R'' do ECG usando o software Acknowledge (LabChart 7.0 ADInstruments) e a variabilidade do intervalo R-R usando o *Fast Fourier Transformation (FFT)*, como descrito anteriormente por (LIMA et al, 2018). Escolhemos um período de 20 min para determinação da VFC. Esse período foi submetido para a detecção de ondas R para

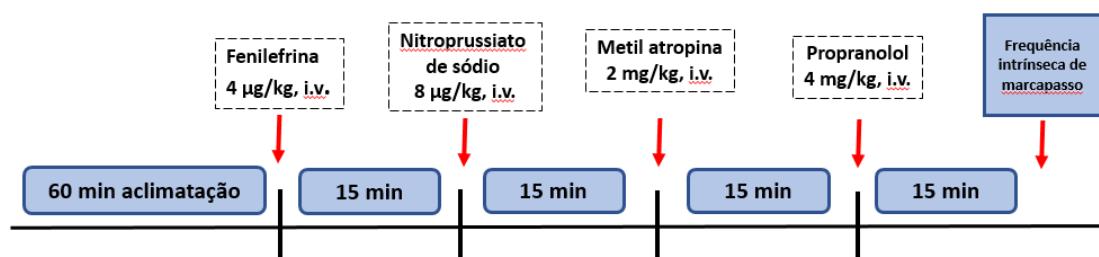
derivar um intervalo de tacograma. O tacograma foi pré-processado e a gravação foi dividida em segmentos de 1000 pontos de dados. O algoritmo FFT produziu um gráfico de densidade espectral em função da frequência cardíaca e nós integramos a área sob a curva para cada componente oscilatório de baixa frequência (LF) e alta frequência (HF). Os componentes oscilatórios foram então rotulados, LF (LF: 0,040,15 Hz) e HF (0,15-0,4 Hz). Os dados são expressos como uma relação LF / HF, que refletiu uma interação complexa entre modulação simpática e parassimpática, e como unidades normalizadas, que verificaram a porcentagem de influência de cada componente oscilatório na VFC global. O componentes LF e HF e sua relação foram expressos em unidades normalizadas (nu).

3.4.9 Análise da sensibilidade ao barorreflexo e tônus autonômico

O registro das respostas baroreflexas e controle do tônus autonômico foi realizado após 24 dos procedimentos cirúrgicos de canulação de artéria e veia femoral em todos os grupos estudados. Com os animais completamente recuperados do efeito da anestesia, os mesmos foram conectados ao sistema de registro e passaram por um período de aclimatação de 60 minutos. A seguir, foi iniciado o procedimento para avaliar a sensibilidade espontânea do barorreflexo através de drogas vasoativas. A primeira droga a ser administrada foi a fenilefrina (4 µg/kg, i.v., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), aguardamos 15 minutos para que a pressão arterial retornasse aos valores basais e administramos o nitroprussiato de sódio (8 µg/kg, i.v., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), após a administração do nitroprussiato de sódio também foram esperados 15 minutos para que os valores da pressão arterial voltassem aos valores basais. Foram quantificados os valores da PAM e FC um minuto antes e um minuto após a administração de fenilefrina para avaliação da sensibilidade baroreflexa, o mesmo aconteceu para a administração no nitroprussiato. Finalmente, os animais foram submetidos à avaliação do tônus autonômico cardíaco. Após a PAM e FC retornarem aos valores basais, os ratos receberam bloqueadores de receptores autonômicos: metil atropina (2 mg/kg, i.v., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) e, após 15 minutos, propranolol (4 mg/kg, i.v., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Quantificamos a FC antes da administração de metil atropina e 15 após, o mesmo ocorreu para o propranolol. Vinte e quatro horas após esse procedimento, com o

animal ainda canulado, conectamos novamente ao sistema e administramos primeiramente propranolol e, após 15 minutos metil atropina.

Figura 13: Desenho experimental para avaliação da sensibilidade ao baroreflexo e avaliação do tônus autonômico



Fonte: Autoria própria, 2019.

3.5. Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm EPM di animais em cada grupo. Os testes estatísticos foram realizados no software *Graphpad Prism* (versão 6.0). A comparação estatística dos dados referentes aos índices hemodinâmicos foi realizada utilizando-se a análise de variância para amostras repetidas (ANOVA) seguidas pelo teste de Tukey. Para análise dos parâmetros de contratilidade “*in vitro*”, utilizamos análise de variância dupla (Two Way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Os valores da EC50 foram calculados a partir do logEC50, que foi mensurado a partir dos valores simples de cada grupo através de regressão não-linear das curvas traçadas. Já a comparação entre-grupos dos resultados foi feita mediante o teste “t” de Student não pareados. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

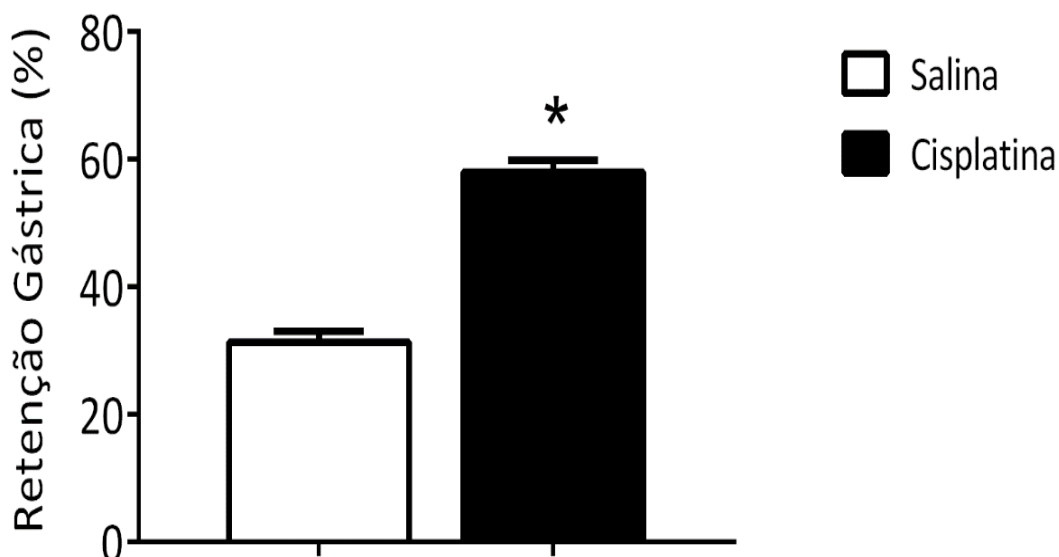
Resultados

4. RESULTADOS

4.1. RESPOSTA DA RETENÇÃO GÁSTRICA

4.1.1 Efeito do Tratamento Crônico com Cisplatina sobre o retenção gástrica de Ratos.

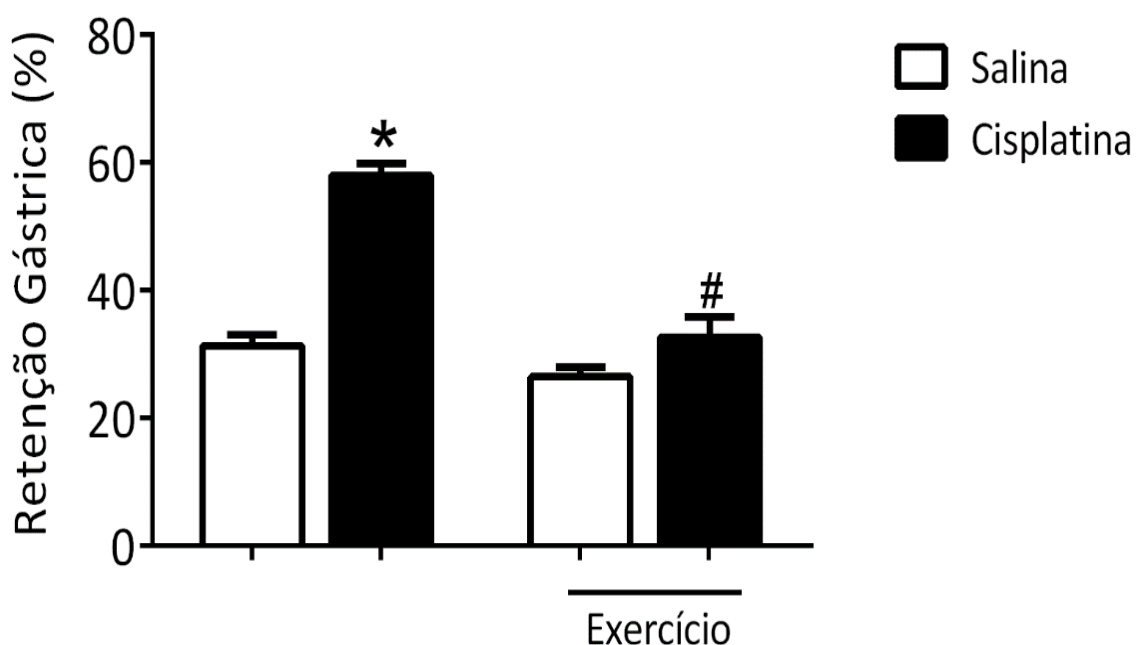
Na **figura 14**, são apresentados os valores médios da retenção gástrica obtida através do método de retenção gástrica após 5 semanas de tratamento com salina ou uso crônico cisplatina. Foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) na retenção gástrica dos ratos cisplatina quando comparados aos ratos controle ($58,0 \pm 1,8 \%$ vs $31,3 \pm 1,7 \%$)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre a retenção gástrica de ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=11); Cisplatina (n=10). Os dados são expressos em média \pm EPM. Para análise dos dados utilizamos teste 't' de Student não pareado. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs. Cisplatina.

4.1.2. Influência do treinamento físico sobre o aumento de retenção gástrica induzida por cisplatina em ratos.

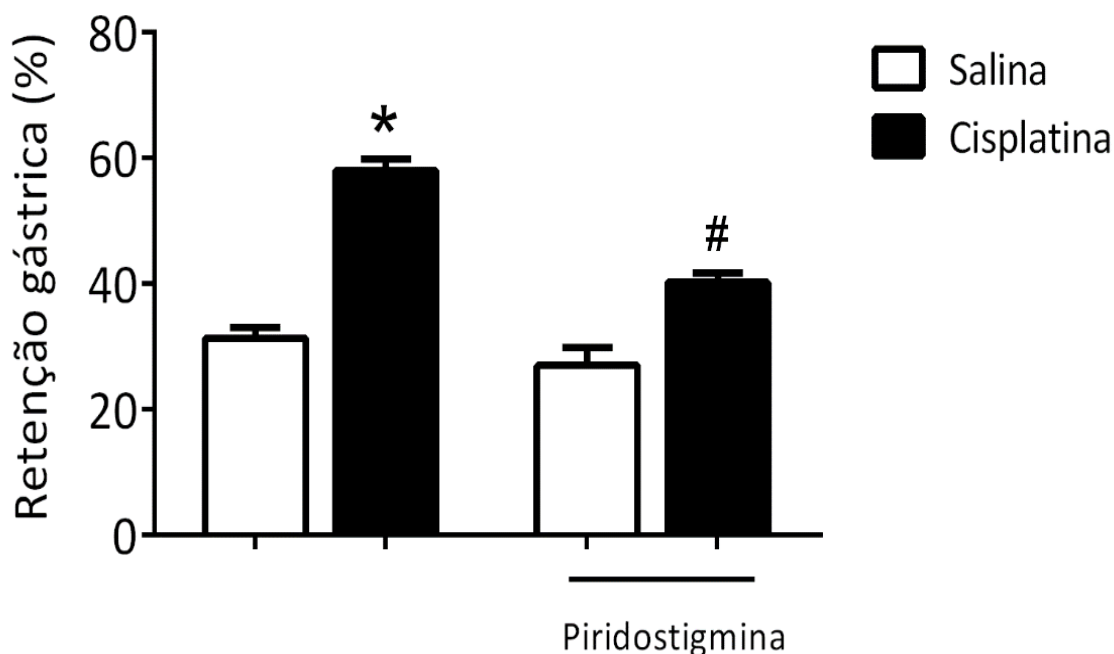
Na **figura 15**, são apresentados os resultados dos valores médios dos grupos salina, cisplatina, exercício e cisplatina+exercício 5%. O grupo cisplatina+exercício 5% apresentou um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre o aumento da retenção gástrica dos ratos tratados somente com cisplatina (Cisplatina: $58,0 \pm 1,8$ % vs Cisplatina+Exercício 5%: $32,6 \pm 3,1$ %). Não observamos diferença entre todos os ratos salina



Legenda: Influência do treinamento físico sobre a retenção gástrica de ratos tratados com cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=11); Cisplatina (n=10); Exercício (n=7); Cisplatina+Exercício 5% (n=7). Os dados são expressos em média \pm EPM. Para análise dos dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício 5%

4.1.3. Efeito da piridostigmina sobre o aumento de retenção gástrica induzida por cisplatina em ratos.

Na **figura 16**, observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentaram um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre o aumento da retenção gástrica dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $58,0 \pm 1,8$ % vs Cisplatina+Piridostigmina: $40,2 \pm 1,5$ %). Não observamos diferença entre todos os ratos salina

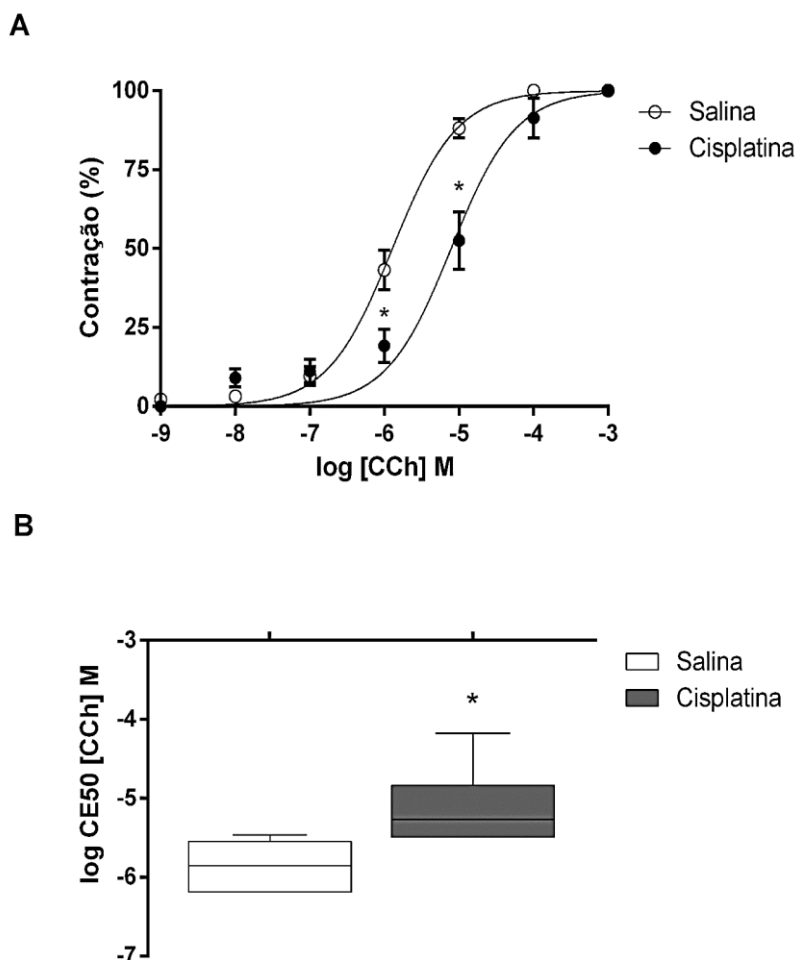


Legenda: Efeito da piridostigmina sobre a retenção gástrica de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=11); Cisplatina (n=10); Piridostigmina (n=7); Cisplatina+Piridostigmina (n=7). Os dados são expressos em média \pm EPM. Para análise dos dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

4.2. RESPOSTA DA RESPONSIVIDADE DAO CARBACOL (CCh)

4.2.1 Resposta da responsividade ao carbacol (CCh) em tiras de fundo gástrico em ratos submetidos a indução com cisplatina.

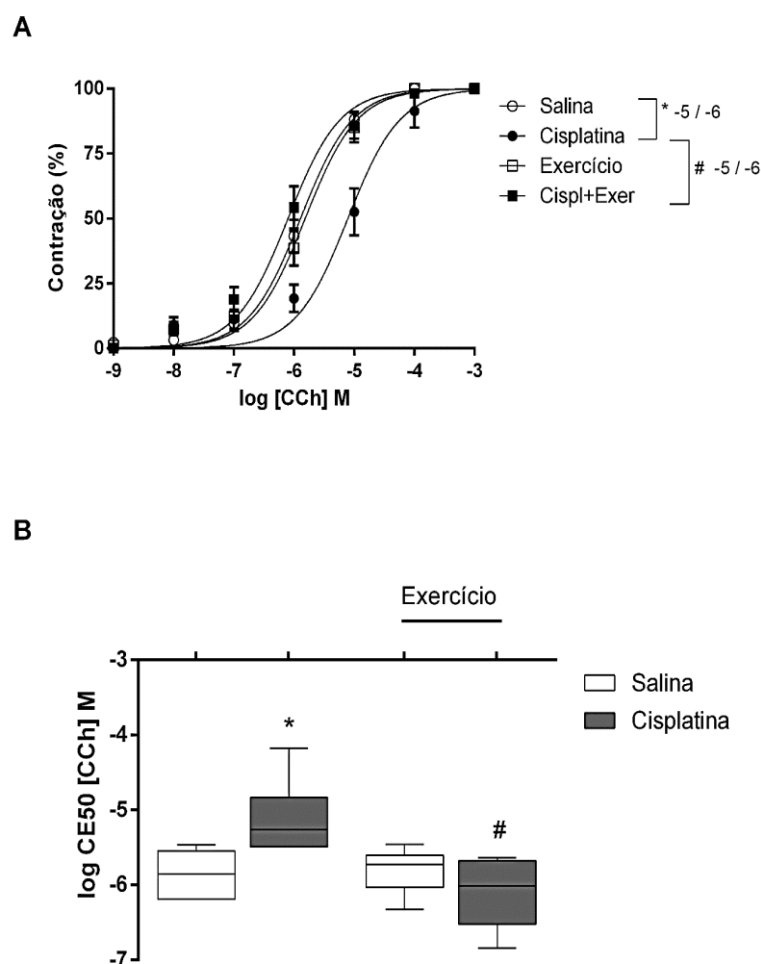
Na **figura 17.A**, observamos que a cisplatina promoveu uma redução significativa ($p < 0,05$) na responsividade ao CCh nas concentrações de 10^{-5} (Cisplatina: $52,5 \pm 9,1$ % vs Salina: $88,1 \pm 2,9$ %) e 10^{-6} em relação aos ratos salina (Cisplatina: $19,2 \pm 5,2$ % vs Salina: $43,2 \pm 6,2$ %). Na **figura 17.B**, no que diz respeito a CE50, observamos que há uma maior concentração de Carbacol (CCh) para atingir metade do efeito máximo no grupo Cisplatina, esse aumento foi significativo ($p < 0,05$), em relação ao grupo Salina (Cisplatina: $-5,26$ [(-5,49) – (-4,17)] vs Salina: $-5,85$ [(-6,18) – (-5,46)])



Legenda: **A**) Efeito da cisplatina sobre a responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico de ratos. **B**) A concentração de Carbacol (CCh) que induz metade do efeito máximo (EC50). Grupos Experimentais: Salina (n=6); Cisplatina (n=6). No gráfico **A** os dados são expressos em média \pm EPM. Para análise dos dados utilizamos Two Way (ANOVA) seguida de teste de Tukey. No gráfico **B**, os dados são expressos em mediana, por análise de dado utilizamos teste "t" de Student. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs. Cisplatina.

4.2.2 Influência do exercício físico sobre a redução de responsividade de CCh em tirar de fundo gástrico em ratos submetidos a indução com cisplatina.

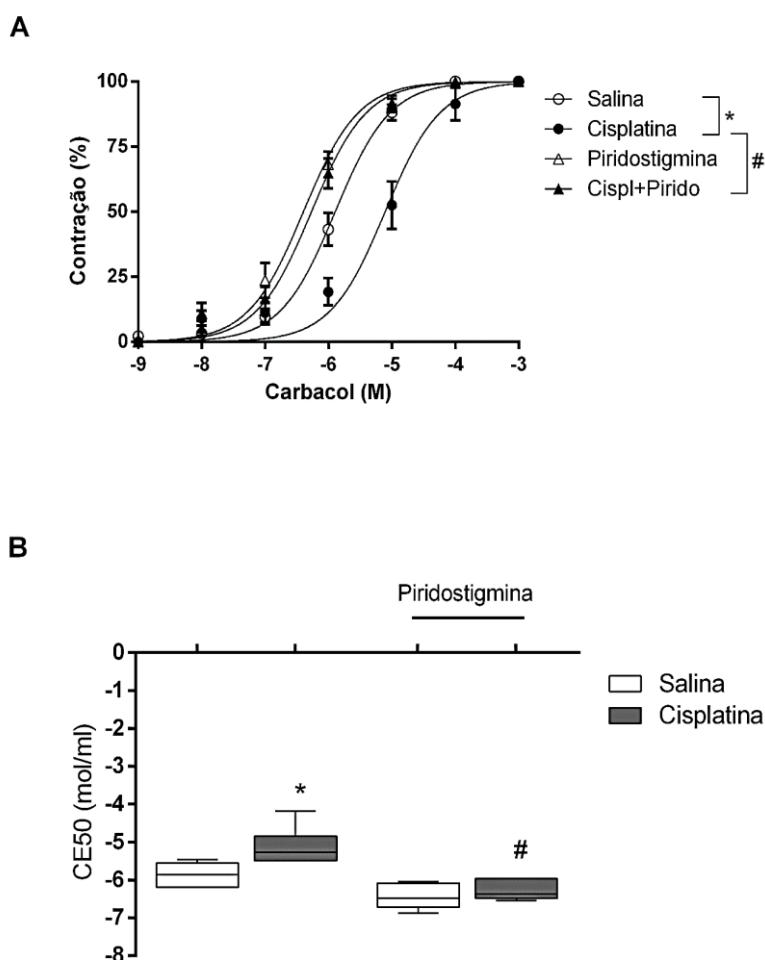
Na **figura 18.A**, também observamos que o grupo Cisplatina submetido ao exercício promoveu um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a redução da responsividade ao CCh do grupo cisplatina nas concentrações de 10^{-5} (Cisplatina: $52,5 \pm 9,1$ % vs Cisplatina+Exercício 5%: $85,7 \pm 4,9$ %) e 10^{-6} (Cisplatina: $19,2 \pm 5,2$ % vs Cisplatina+Exercício 5%: $54,2 \pm 8,1$ %). Não observamos diferença entre os ratos Salina e Exercício. Na **figura 18.B**, no que diz respeito a CE50, observamos que há uma diminuição na concentração de Carbacol (CCh) para atingir metade do efeito máximo no grupo Cisplatina+Exercício, esse diminuição foi significativo ($p < 0,05$), em relação ao grupo Cisplatina (Cisplatina+Exercício: $-6,0$ [(-6,84) – (-5,63)] vs Cisplatina: $-5,26$ [(-5,49) – (-4,17)]).



Legenda: **A**) Influência do treinamento físico sobre a responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico de ratos. **B**) A concentração de Carbacol (CCh) que induz metade do efeito máximo (EC50). Grupos Experimentais: Salina (n=6); Cisplatina (n=6); Exercício (n=6); Cisplatina+Exercício 5% (n=6). No gráfico **A**, os dados são expressos em média \pm EPM. Para estatística dos dados utilizamos Two Way (ANOVA) seguida de teste de Tukey. No gráfico **B**, os dados são expressos em mediana, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício.

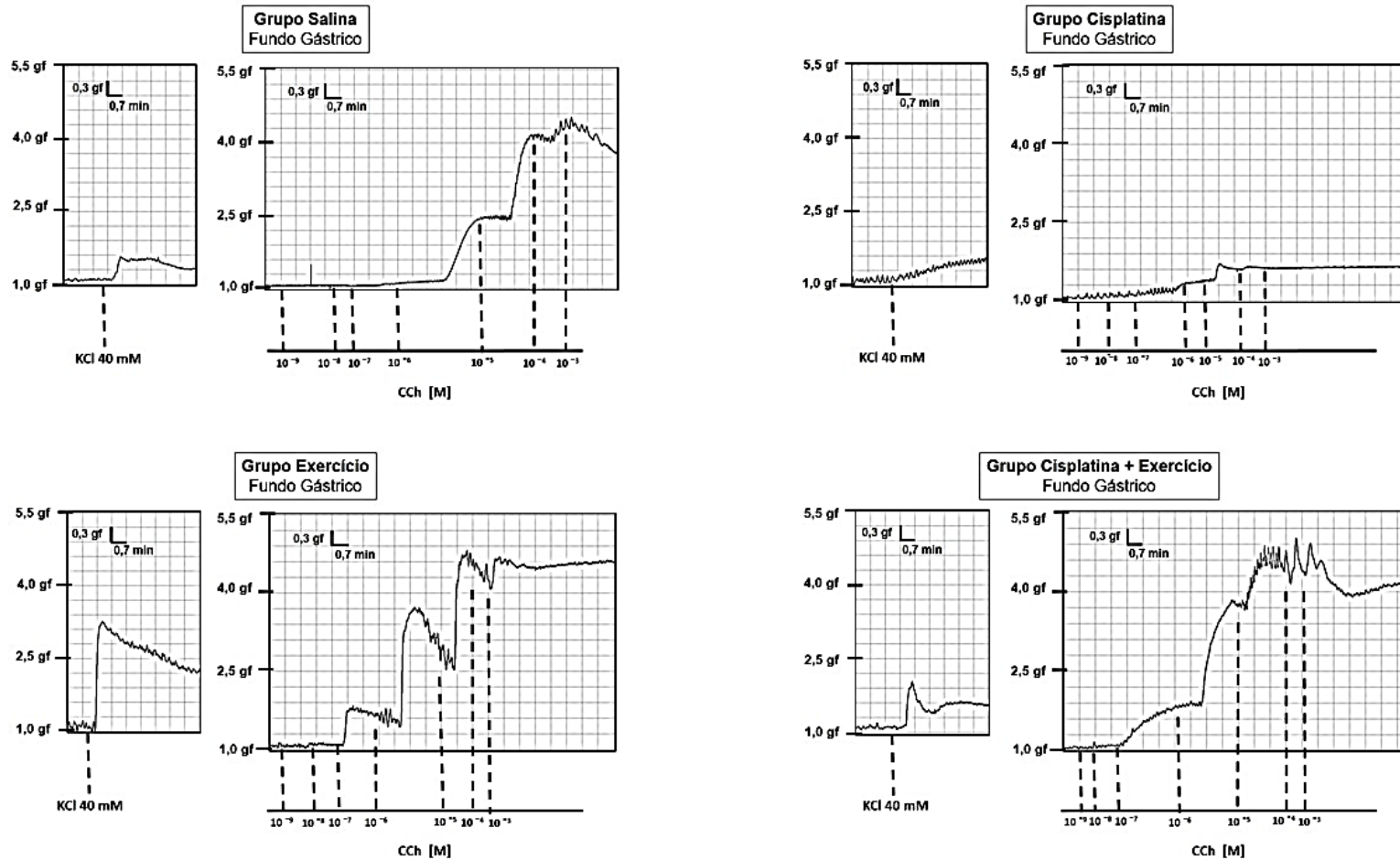
4.2.3 Resposta da piridostigmina sobre a redução de responsividade de CCh em tirar de fundo gástrico induzida por cisplatina em ratos.

Na **figura 19.A**, observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição da responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico dos ratos Cisplatina nas concentrações de 10^{-5} (Cisplatina: $52,5 \pm 9,1$ % vs Cisplatina+Piridostigmina: $91,1 \pm 2,4$ %) e 10^{-6} (Cisplatina: $19,2 \pm 5,2$ % vs Cisplatina+Piridostigmina: $64,7 \pm 5,7$ %). Não observamos diferença entre os ratos Salina e Piridostigmina. Na **figura 20.B**, no que diz respeito a CE50, observamos que há uma diminuição na concentração de Carbacol (CCh) para atingir metade do efeito máximo no grupo Cisplatina+Piridostigmina, esse diminuição foi significativo ($p < 0,05$), em relação ao grupo Cisplatina (Cisplatina+Piridostigmina: $-6,36$ [(-6,54) – (-5,95)] vs Cisplatina: $-5,26$ [(-5,49) – (-4,17)]).



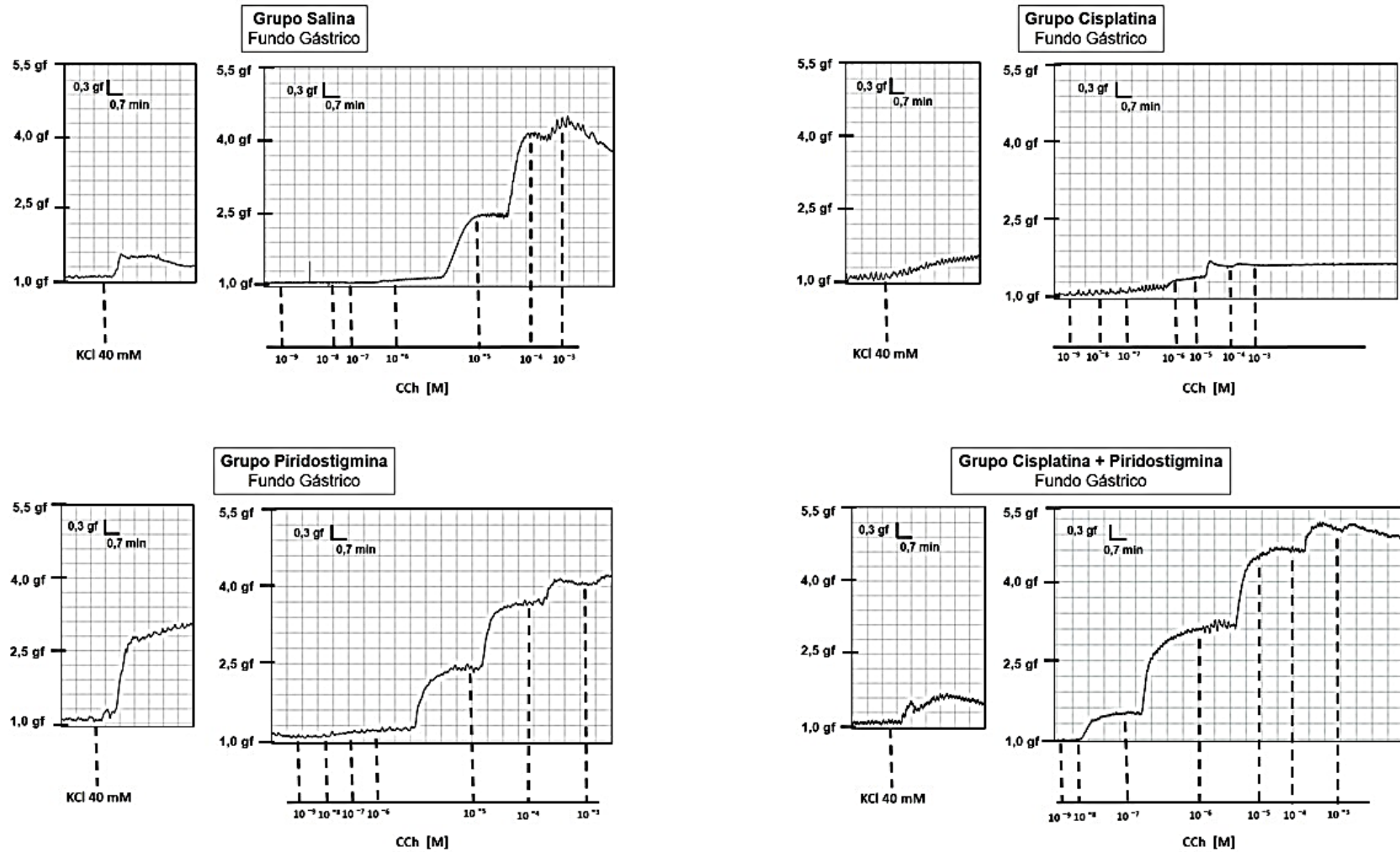
Legenda: **A**) Efeito da piridostigmina sobre a responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico de ratos. **B**) A concentração de Carbacol (CCh) que induz metade do efeito máximo (EC50). Grupos Experimentais: Salina (n=6); Cisplatina (n=6); Piridostigmina (n=6); Cisplatina+Piridostigmina (n=6). No gráfico **A**, os dados são expressos em média \pm EPM. Para estatística dos dados utilizamos Two Way (ANOVA) seguida de teste de Tukey. No gráfico **B**, os dados são expressos em mediana, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

Figura 20: Traçado da responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico.



Legenda: Efeito da responsividade ao carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundos de estômago de ratos Salina, Cisplatina, Exercício e Cisplatina+Exercício nas concentrações de 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} e 10^{-3} CCh [M]. Foi utilizada a escala de 0,3 gf/ 0,7 min.

Figura 21: Traçado da responsividade ao CCh em tiras de fundo gástrico.

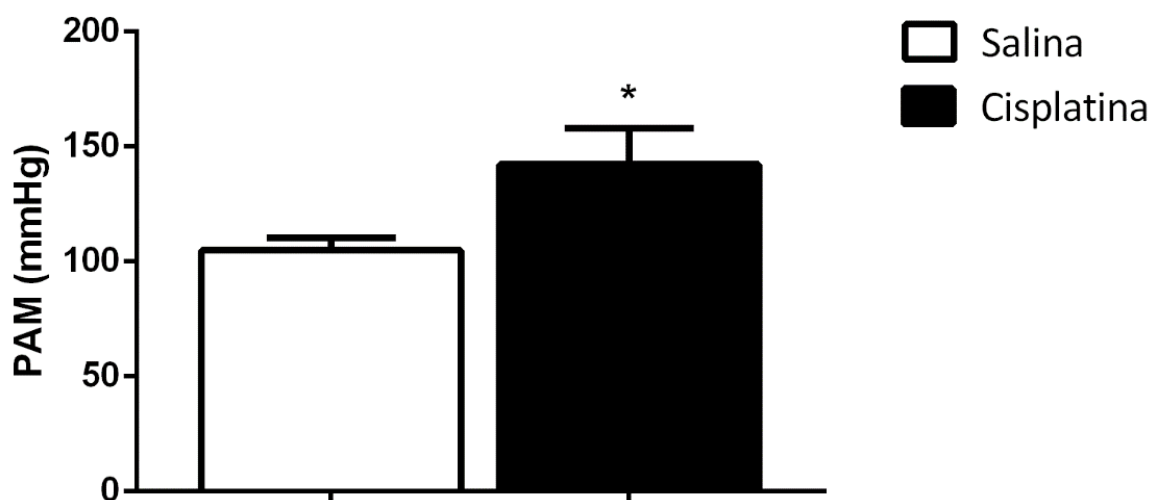


Legenda: Efeito da responsividade ao carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundos de estômago de ratos Salina, Cisplatina, Exercício e Cisplatina+Exercício nas concentrações de 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} e 10^{-3} CCh [M]. Foi utilizada a escala de 0,3 gf/ 0,7 min.

4.3 RESPOSTAS DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA

4.3.1 Resposta da pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina.

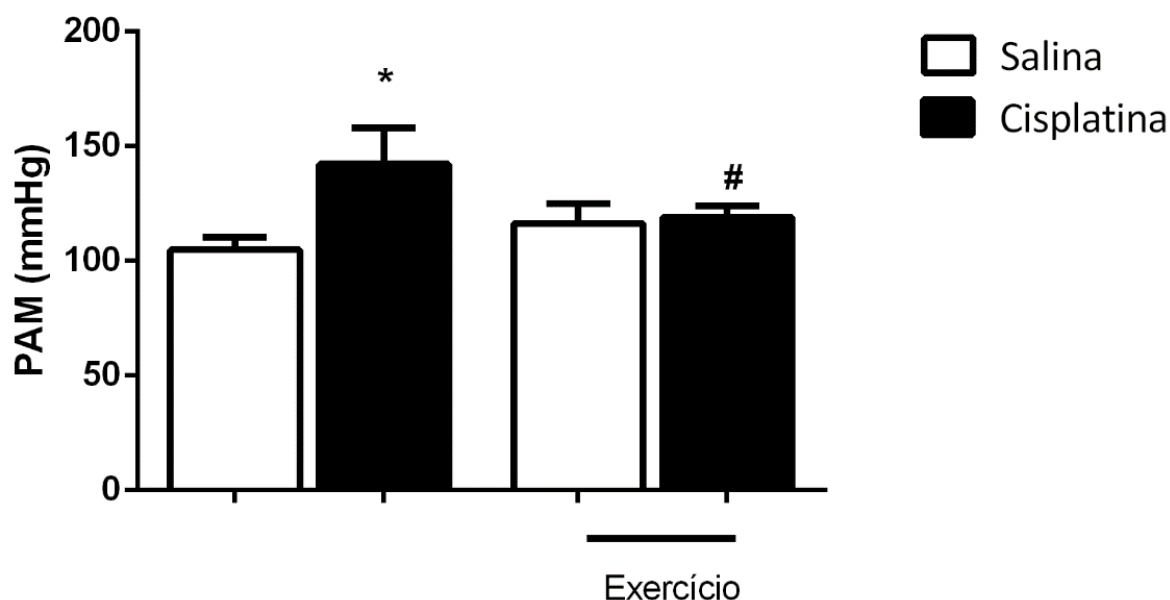
Na **figura 22**, apresentamos a pressão arterial média de ratos Salina e Cisplatina, observamos que a Cisplatina apresentou um aumento significativa ($p < 0,05$) na pressão arterial quando comparado aos ratos Salina (Salina: $104,9 \pm 1,6$ mmHg vs Cisplatina: $142,3 \pm 6,4$ mmHg)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre a pressão arterial de ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=10); Cisplatina (n=7). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos teste 't' de Student não pareado. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina.

4.3.2 Influência do treinamento físico sobre a pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina.

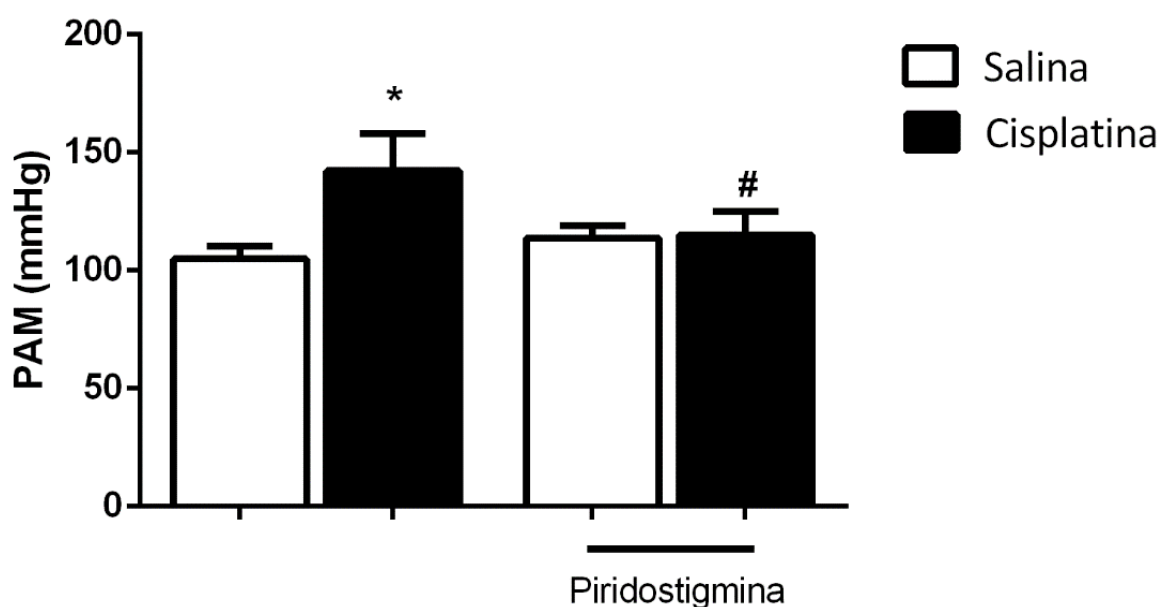
Na **figura 23**, mostramos a pressão arterial média (PAM) de um rato Salina e Cisplatina, submetidos a exercício físico 5%. Mostramos ainda que a PAM dos ratos Cisplatina+Exercício apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre o aumento da pressão arterial dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $142,3 \pm 6,4$ mmHg vs Cisplatina+Exercício 5%: $118,9 \pm 1,9$ mmHg). Não observamos diferença entre todos os ratos salina



Legenda: Influência do treinamento físico sobre a pressão arterial média de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=10); Cisplatina (n=7); Exercício (n=7); Cisplatina+Exercício 5% (n=7). Os dados foram expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício 5%.

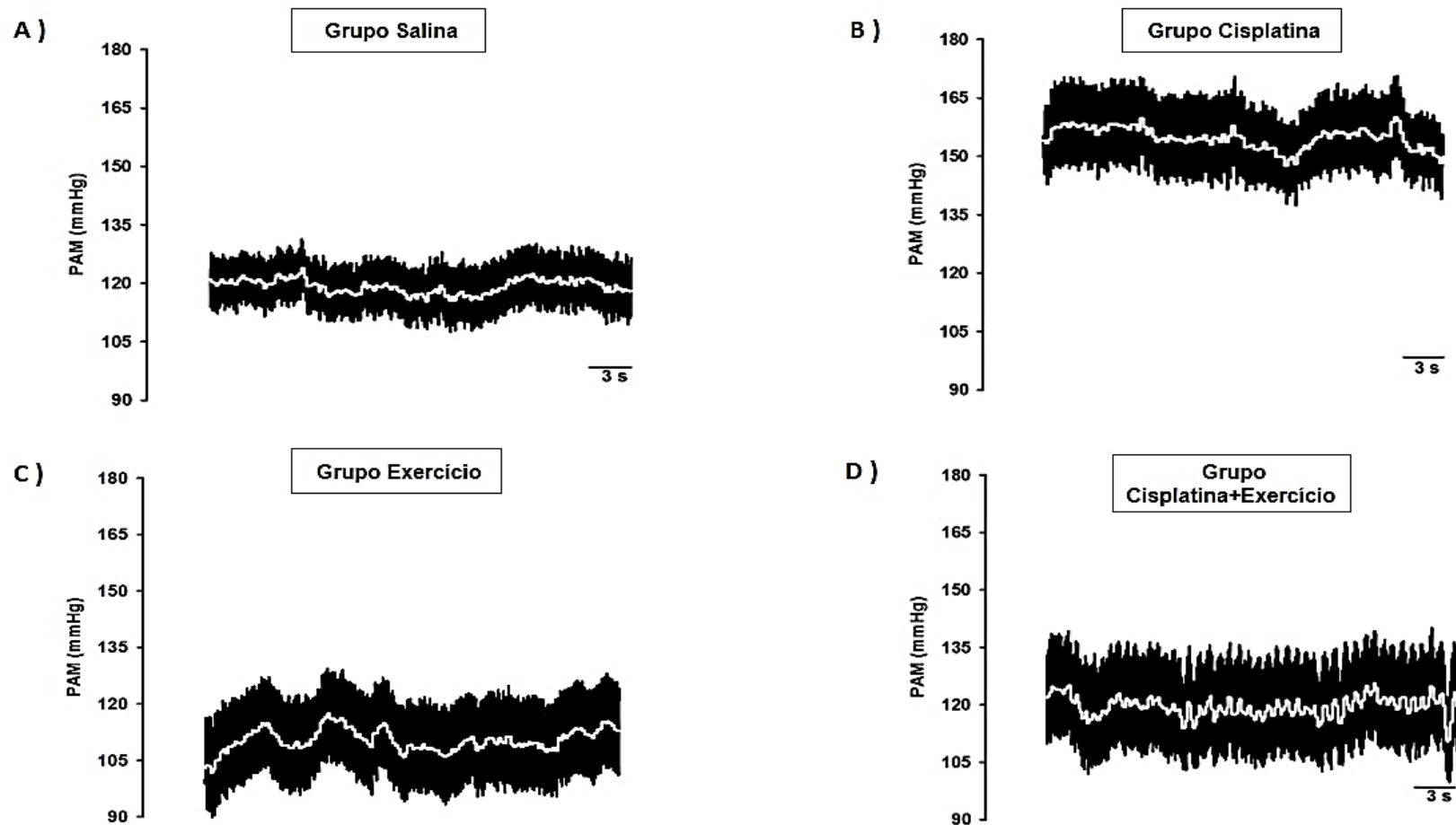
4.3.3 Resposta da piridostigmina sobre a pressão arterial média em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 24**, observamos a pressão arterial média de ratos Salina e Cisplatina submetidos a tratamento com piridostigmina. Observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre o aumento da PAM dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $142,3 \pm 6,4$ mmHg vs Cisplatina+Piridostigmina: $115,2 \pm 4,0$ mmHg). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.



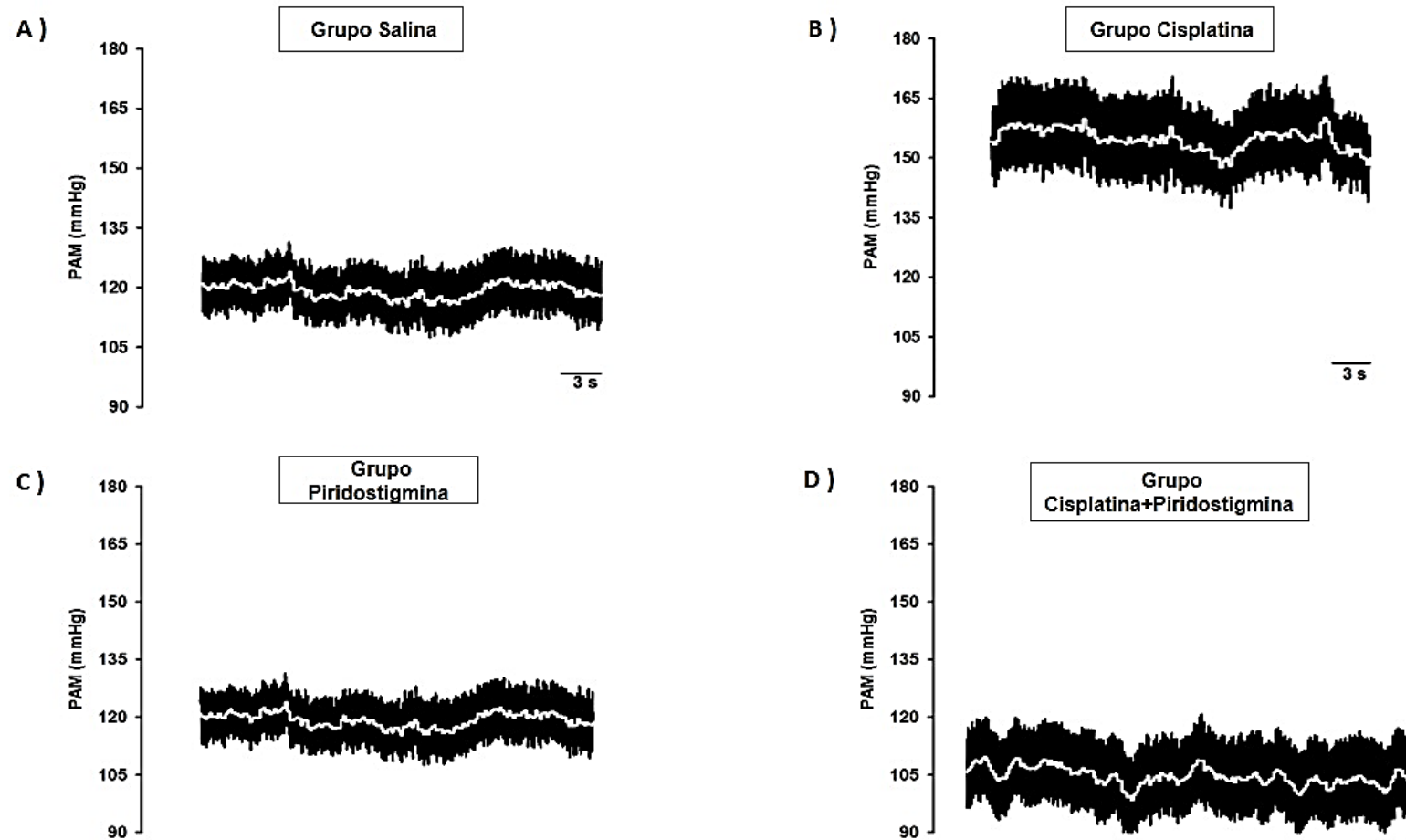
Legenda: Efeito da piridostigmina sobre a pressão arterial de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=10); Cisplatina (n=7); Piridostigmina (n=7); Cisplatina+Piridostigmina (n=7). Os dados foram expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

Figura 25: Traçados originais da PAM e PAP dos Grupos Salina, Cisplatina, Exercício, Cisplatina+Exercício.



Legenda: Trechos originais da (PAM, mmHg) do grupo Salina (A), Cisplatina (B), Exercício (C) e Cisplatina+Exercício (D). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos. O traçado em preto demonstra a PAP (pressão arterial pulsátil) e o traçado em branco ao centro demonstra a PAM (pressão arterial média)

Figura 26: Traçados originais da PAM e PAP dos Grupos Salina, Cisplatina, Piridostigmina, Cisplatina+Piridostigmina.

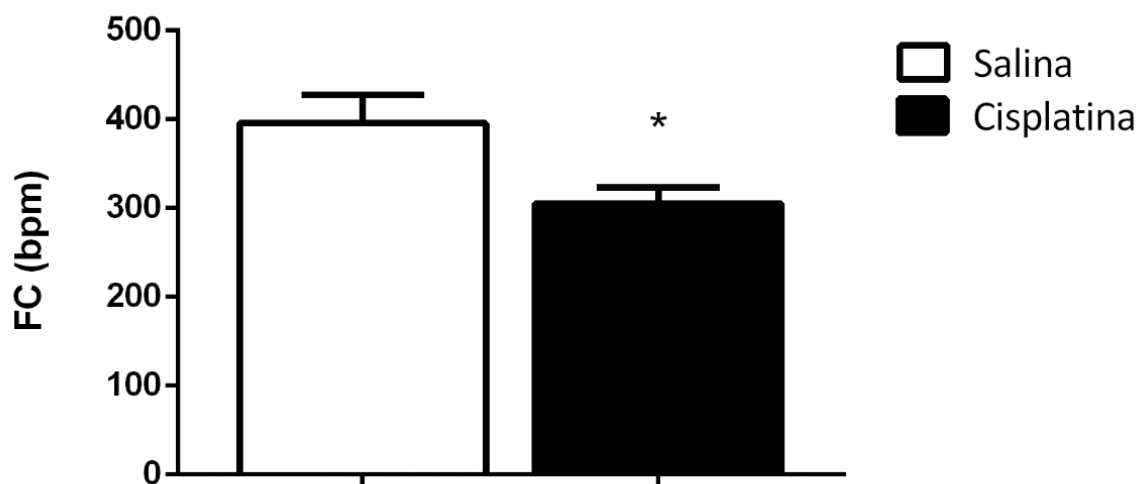


Legenda: Trechos originais da (PAM, mmHg) do grupo Salina (A), Cisplatina (B), Piridostigmina (C) e Cisplatina+Piridostigmina (D). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos. O traçado em preto demonstra a PAP (pressão arterial pulsátil) e o traçado em branco ao centro demonstra a PAM (pressão arterial média).

4.4.RESPOSTAS DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

4.4.1 Resposta da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina.

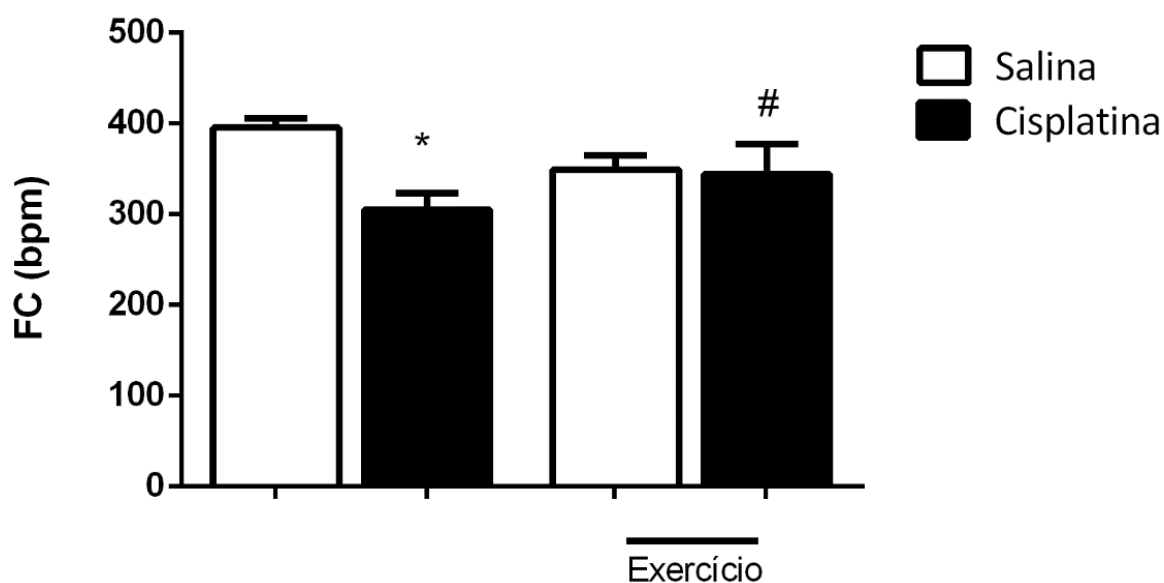
Na **figura 27**, mostramos a frequência cardíaca (FC) de ratos Salina e Cisplatina, observamos que os ratos Cisplatina apresentaram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na FC comparado aos ratos Salina (Salina: $394,5 \pm 10,6$ bpm vs Cisplatina: $305,4 \pm 18,1$ bpm)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre a frequência cardíaca de ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=9); Cisplatina (n=9). Os dados foram expressos em média \pm EPM, por teste *t' de Student* não pareado. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina

4.4.2 Influência do treinamento físico sobre a frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina.

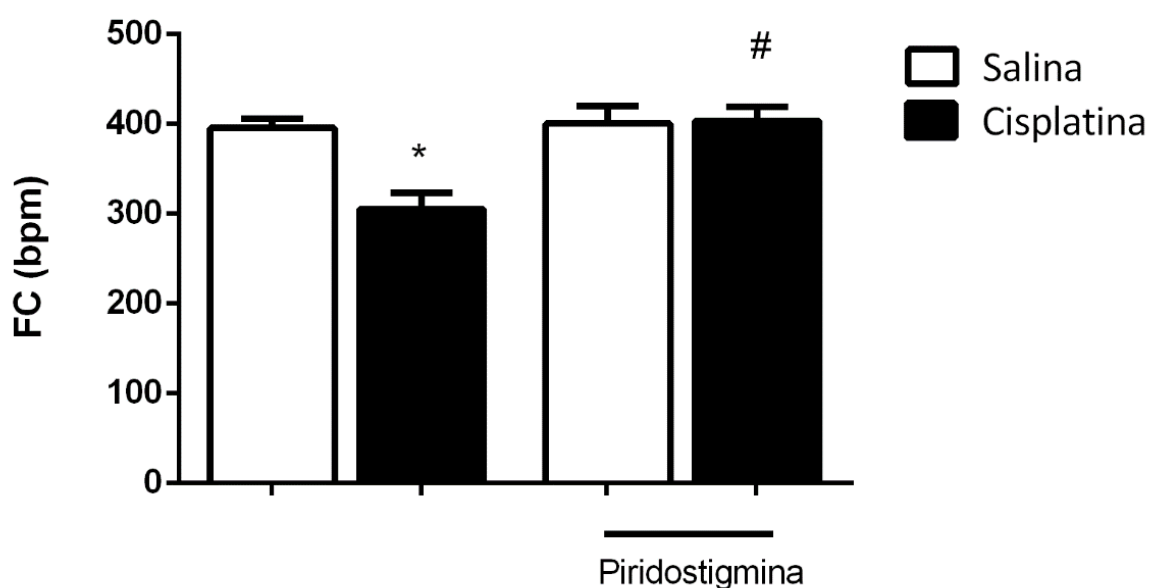
Na **figura 28**, mostramos a frequência cardíaca (FC) de um rato Salina e Cisplatina, submetidos a exercício físico 5%. Mostramos ainda que não houve diferença significativa nos ratos Cisplatina+Exercício quando comparados aos ratos Cisplatina (Cisplatina: $305,4 \pm 18,1$ bpm vs Cisplatina+Exercício 5%: $344,1 \pm 12,6$ bpm). Não observamos diferença entre os ratos Salina e Exercício.



Legenda: Influência do treinamento físico na frequência cardíaca de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=9); Cisplatina (n=9); Exercício (n=7); Cisplatina+Exercício 5% (n=7). Os dados são expressos em média ± EPM, para análise dos dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: *p<0,05: Salina vs Cisplatina; # p<0,05: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício.

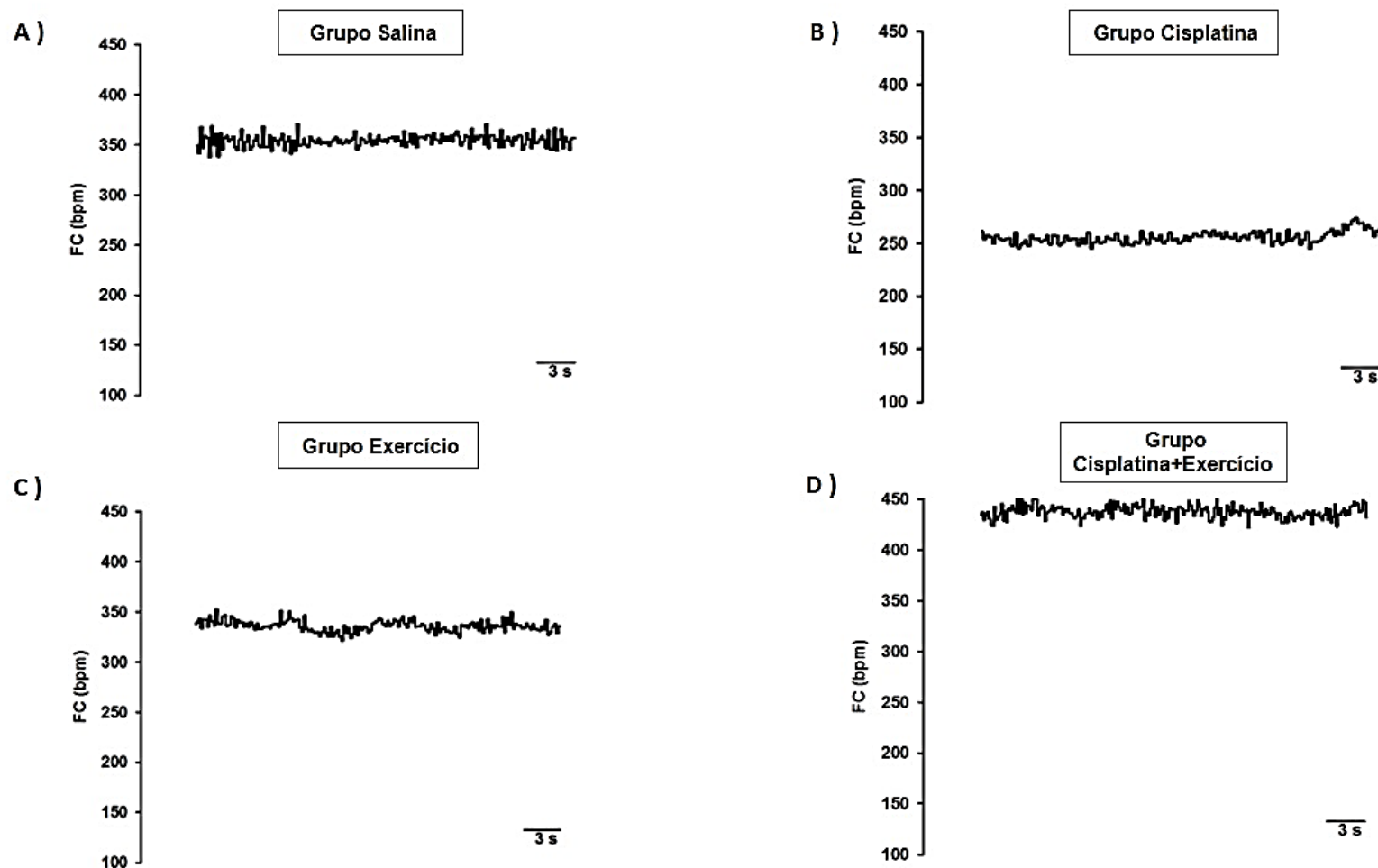
4.4.3 Resposta da piridostigmina sobre frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 29**, observamos a frequência cardíaca (FC) de ratos Salina e Cisplatina submetidos a tratamento com piridostigmina. Observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição da FC dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $305,4 \pm 10,6$ bpm vs Cisplatina+Piridostigmina: $403,4 \pm 15,8$ bpm). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.



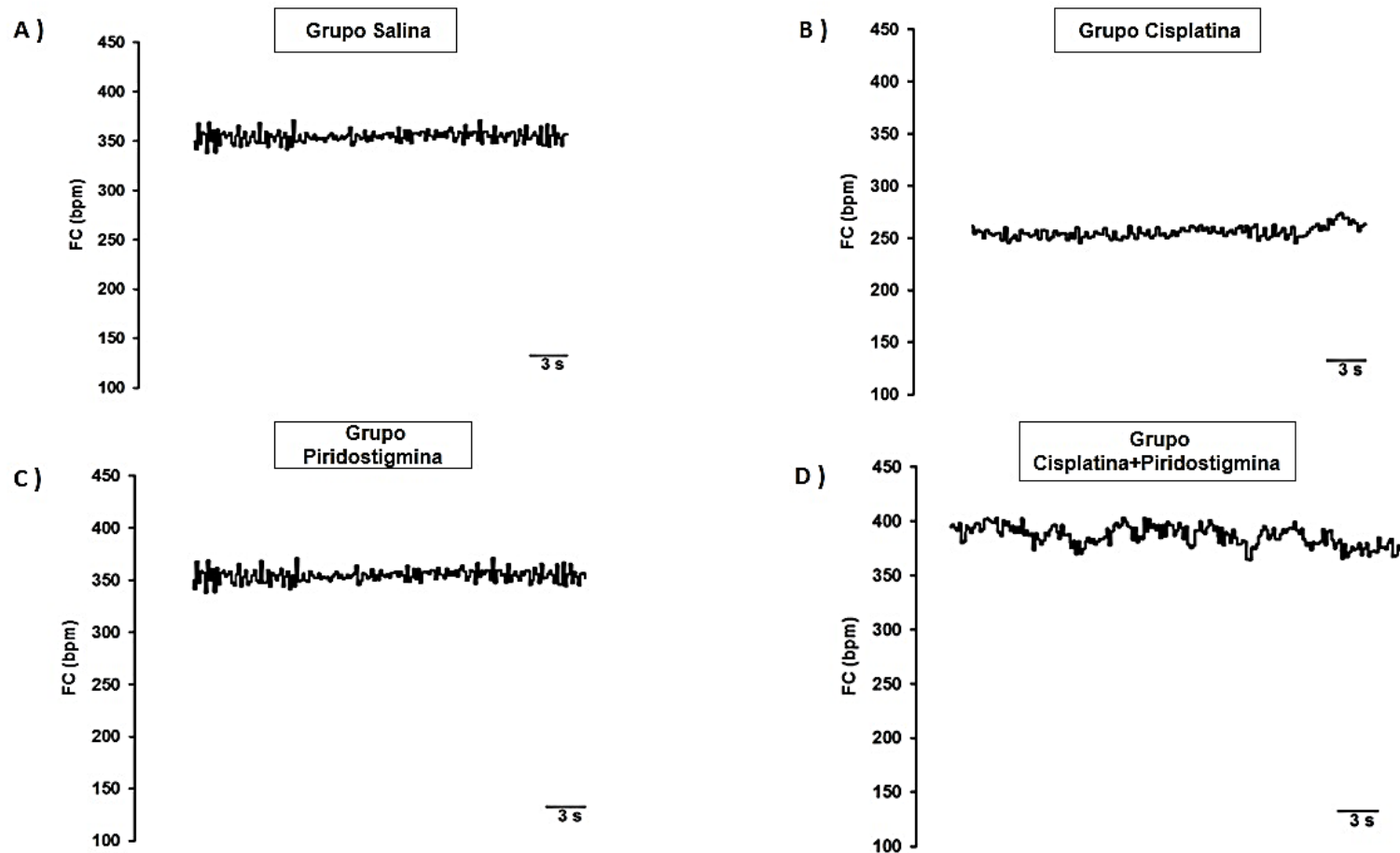
Legenda: Efeito da piridostigmina sobre a frequência cardíaca de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=9); Cisplatina (n=9); Piridostigmina (n=8); Cisplatina+Piridostigmina (n=7). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

Figura 30: Traçados originais da FC dos Grupos Salina, Cisplatina, Exercício, Cisplatina+Exercício.



Legenda: Trechos originais da (FC, bpm) do grupo Salina (A), Cisplatina (B), Exercício (C) e Cisplatina+Exercício (D). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos.

Figura 31: Traçados originais da PAM e PAP dos Grupos Salina, Cisplatina, Piridostigmina, Cisplatina+Piridostigmina.

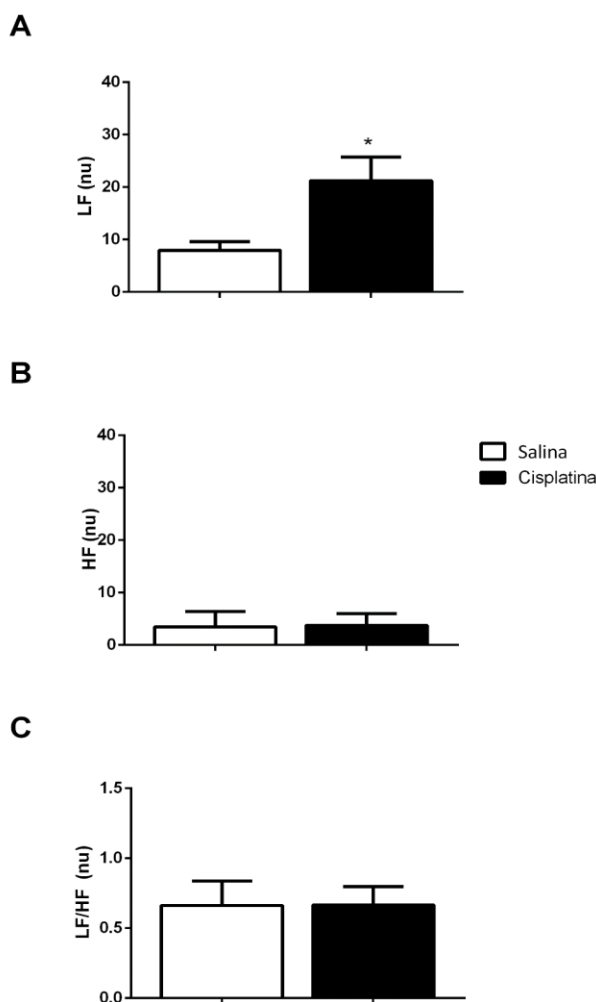


Legenda: Trechos originais da (FC, bpm) do grupo Salina (A), Cisplatina (B), Piridostigmina (C) e Cisplatina+Piridostigmina (D). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos.

4.5 RESPOSTAS VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA (VFC)

4.5.1 Resposta da variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina.

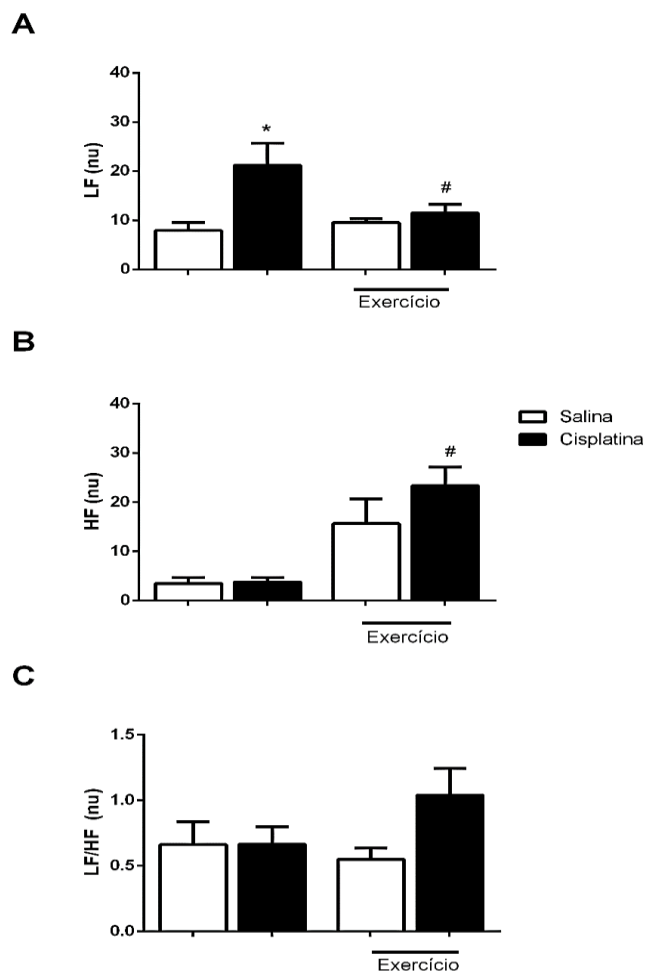
Na **figura 32.A**, mostramos o componente LF de ratos Salina e Cisplatina, observamos que os ratos Cisplatina apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) no componente LF quando comparado aos ratos Salina (Salina: $7,9 \pm 1,6$ nu vs Cisplatina: $21,2 \pm 4,5$ nu). Na **figura 32.B**, em relação ao componente HF, o grupo Cisplatina não apresentou diferença significativa em relação ao grupo Salina (Salina: $3,5 \pm 1,2$ nu vs Cisplatina: $3,7 \pm 0,9$ nu). Na **figura 32.C**, mostramos também que na relação LF/HF não houve diferença significativa entre os grupos Salina e Cisplatina (Salina: $0,7 \pm 0,2$ nu vs Cisplatina: $0,7 \pm 0,1$ nu).



Legenda: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) – LF (baixa frequência); HF (alta frequência) e relação LF/HF - em ratos salina e cisplatina, realizado com intervalo de 1500 batidas. Grupos Experimentais: Salina (n=8); Cisplatina (n=7). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos teste *t* de Student não pareado. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina.

4.5.2 Influência do treinamento físico sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina.

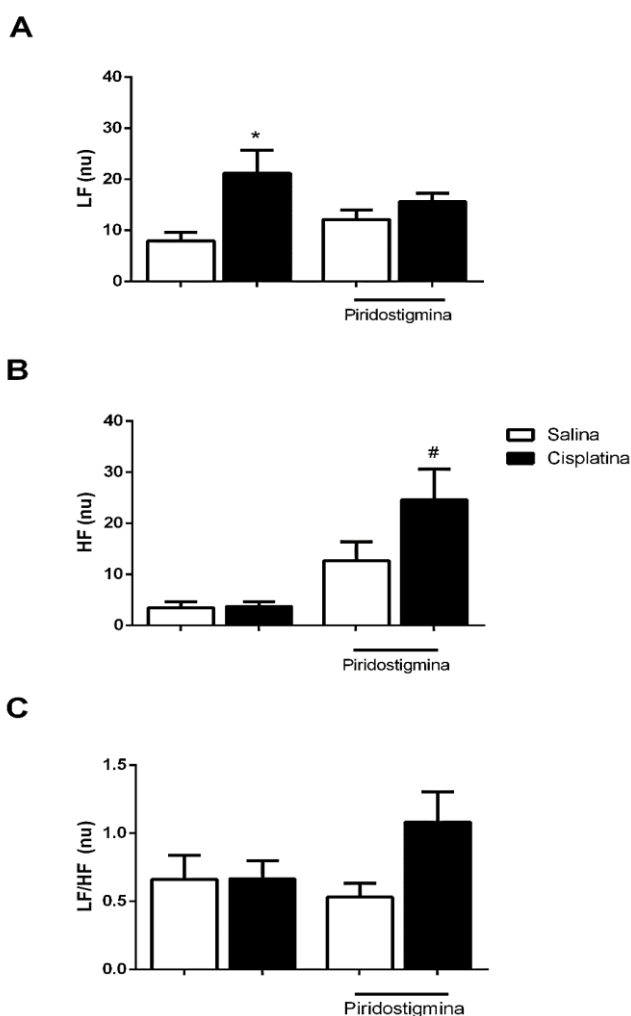
Na **figura 33.A**, observamos o componente LF de ratos Exercício e Cisplatina+Exercício, mostramos que o tratamento com Exercício foi capaz de prevenir ($p < 0,05$) o aumento do componente LF dos animais Cisplatina (Cisplatina: $21,2 \pm 4,5$ nu vs Cisplatina+Exercício: $11,5 \pm 1,7$ nu). Na **figura 33.B**, em relação ao componente HF, o grupo Cisplatina+Exercício apresentou um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição do HF do grupo Cisplatina (Cisplatina: $3,7 \pm 0,9$ nu vs Cisplatina+Exercício: $23,4 \pm 3,7$ nu). Também foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) de HF do grupo Exercício em relação ao grupo Salina (Salina: $3,5 \pm 1,2$ nu vs Exercício: $15,6 \pm 5,0$ nu). Na **figura 33.C**, mostramos também que na relação LF/HF não houve diferença significativa entre os grupos Cisplatina e Cisplatina+Exercício (Cisplatina: $0,7 \pm 0,1$ nu vs Cisplatina+Exercício: $1,0 \pm 0,2$ nu).



Legenda: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) – LF (baixa frequência); HF (alta frequência) e relação LF/HF - em ratos salina e cisplatina, realizado com intervalo de 1500 batidas Grupos Experimentais: Salina (n=8); Cisplatina (n=7); Exercício (n=7); Cisplatina+Exercício 5% (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício 5%.

4.5.3 Resposta da piridostigmina sobre a variabilidade da frequência cardíaca em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 34.A**, observamos o componente LF de ratos Piridostigmina e Cisplatina+piridostigmina, mostramos que o tratamento com piridostigmina não foi capaz de prevenir o aumento do componente LF nos animais cisplatina (Cisplatina: $21,2 \pm 4,5$ nu vs Cisplatina+Piridostigmina: $15,6 \pm 1,5$ nu). Na **figura 34.B**, em relação ao componente HF, o grupo Cisplatina+piridostigmina apresentou um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição de HF no grupo cisplatina (Cisplatina: $3,7 \pm 0,9$ nu vs Cisplatina+Piridostigmina: $24,6 \pm 5,9$ nu). Na **figura 34.C**, mostramos também que na relação LF/HF não houve diferença significativa entre os grupos cisplatina e cisplatina+piridostigmina (Cisplatina: $0,7 \pm 0,1$ nu vs Cisplatina+Piridostigmina: $1,1 \pm 0,2$ nu).

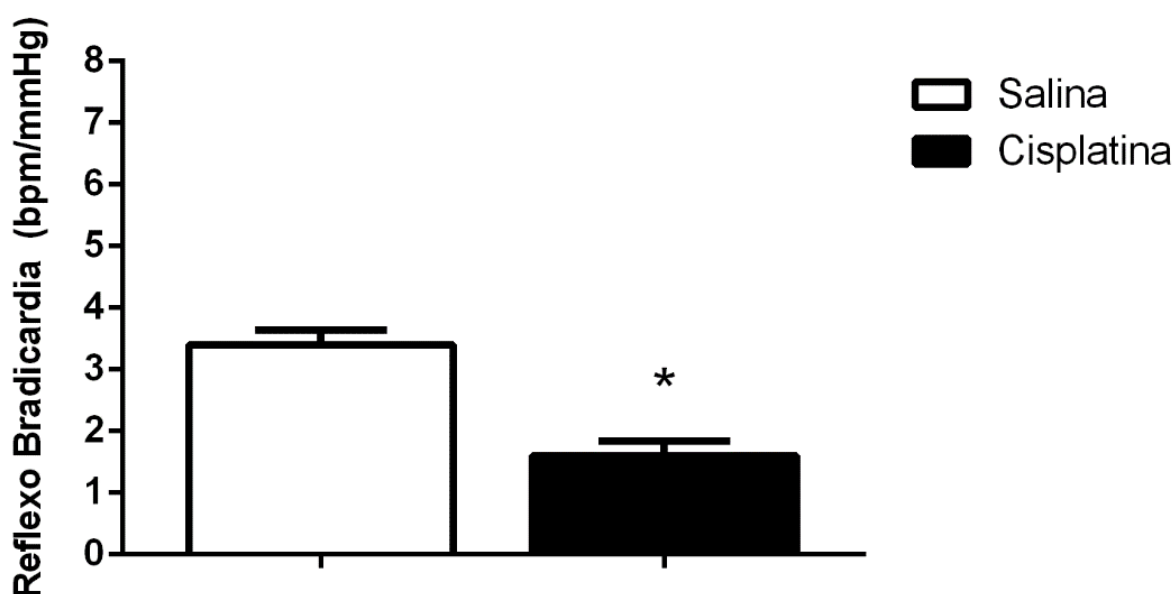


Legenda: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) – LF (baixa frequência); HF (alta frequência) e relação LF/HF - em ratos salina e cisplatina, realizado com intervalo de 1500 batidas Grupos Experimentais: Salina (n=8); Cisplatina (n=7); Piridostigmina (n=7); Cisplatina+Piridostigmina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício 5%.

4.6 RESPOSTAS DO BAROREFLEXO APÓS ADMINISTRAÇÃO DE FENILEFRINA

4.6.1 Resposta do baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina.

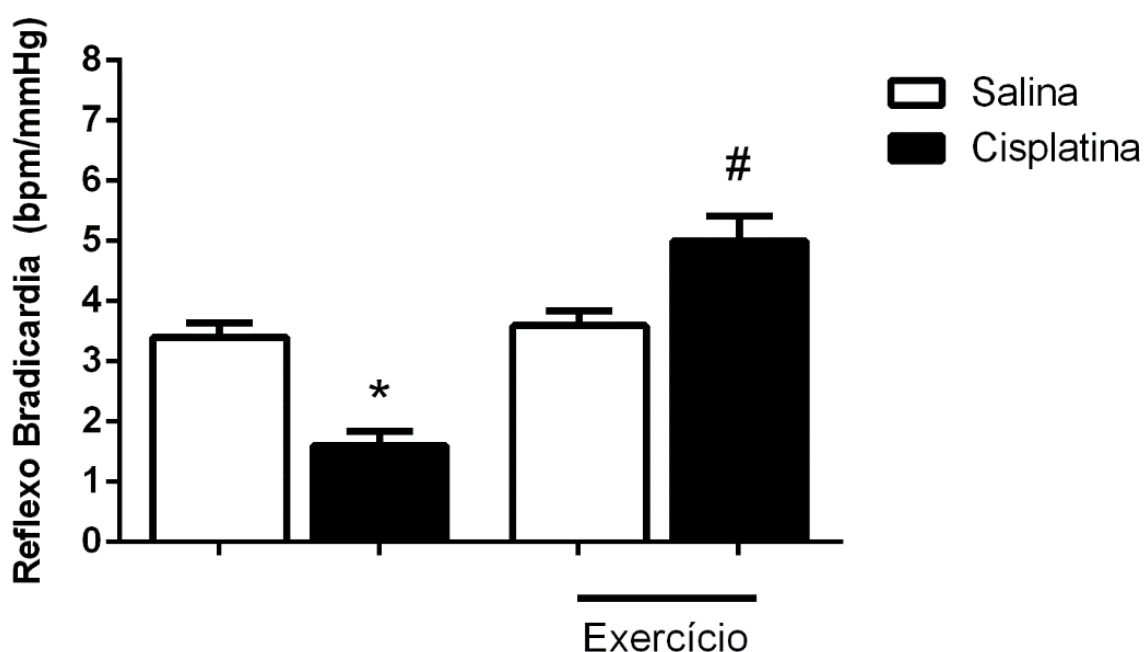
Na **figura 35**, observamos a resposta baroreflexa (razão entre a variação da frequência cardíaca e a variação da pressão arterial) após administração de fenilefrina dos ratos Salina e Cisplatina, observamos que os ratos Cisplatina apresentaram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) comparado aos ratos Salina (Salina: $3,4 \pm 0,2$ bpm/mmHg vs Cisplatina: $1,6 \pm 0,2$ bpm/mmHg)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre o baroreflexo após administração de fenilefrina em ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5). Os dados foram expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos teste *t* de Student não pareado. Significância: $p < 0,05$: * Salina vs Cisplatina

4.6.2 Influência do treinamento físico sobre o barorreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina.

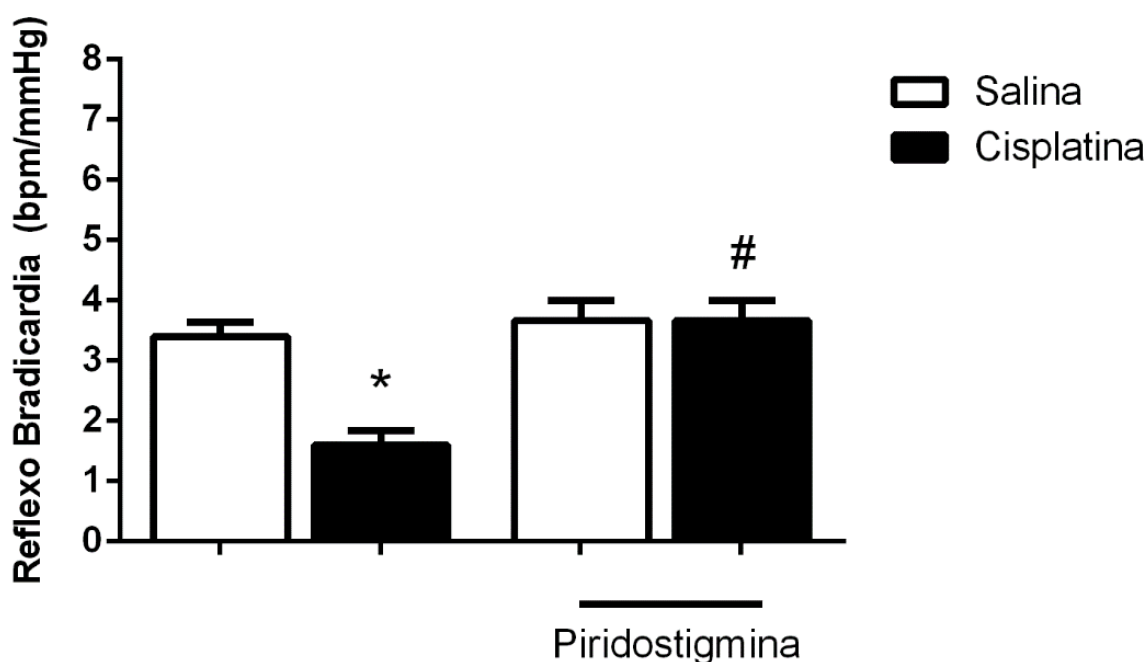
Na **figura 36**, mostramos o barorreflexo após administração de fenilefrina de ratos Salina e Cisplatina, submetidos a exercício físico 5%. Mostramos ainda que o exercício foi capaz de prevenir a diminuição da resposta baroreflexa após administração de fenilefrina em ratos Cisplatina ($p < 0,05$) (Cisplatina: $1,6 \pm 0,2$ bpm/mmHg vs Cisplatina+Exercício 5%: $5,0 \pm 0,4$ bpm/mmHg). Não observamos diferença entre todos os ratos salina.



Legenda: Influência do treinamento físico no barorreflexo após administração de fenilefrina em ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Exercício (n=5); Cisplatina+Exercício 5% (n=5). Os dados foram expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício.

4.6.3 Resposta da piridostigmina sobre o barorreflexo após administração de fenilefrina em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 37**, observamos a resposta baroreflexa após a administração de fenilefrina em ratos Salina e Cisplatina submetidos a piridostigmina. Observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição da resposta baroreflexa após administração de fenilefrina dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $1,6 \pm 0,2$ bpm/mmHg vs Cisplatina+Piridostigmina: $3,7 \pm 0,3$ bpm/mmHg). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.

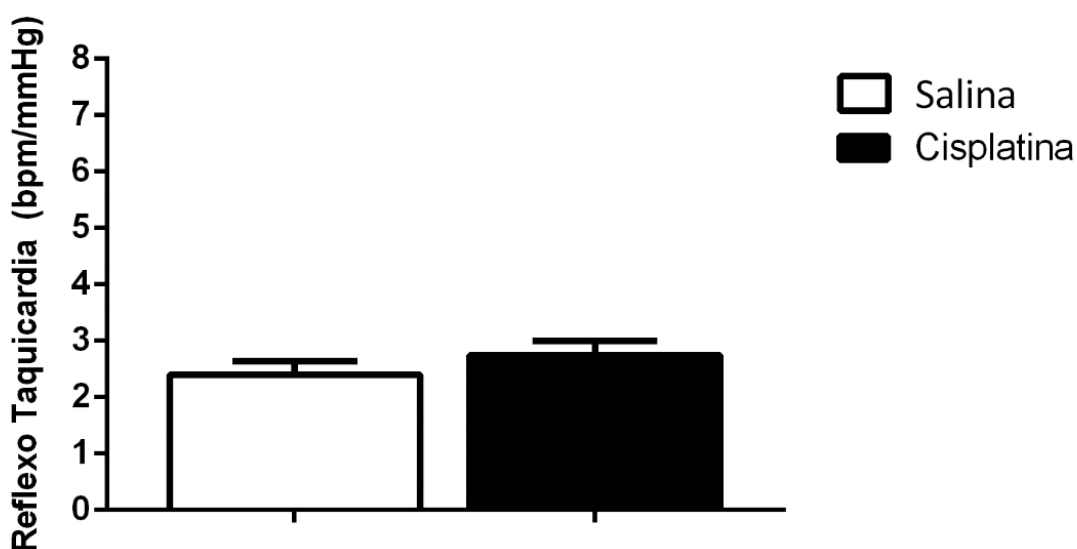


Legenda: Efeito da piridostigmina sobre o barorreflexo após administração de fenilefrina em ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Piridostigmina (n=5); Cisplatina+Piridostigmina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

4.7 RESPOSTAS DO BAROREFLEXO APÓS ADMINISTRAÇÃO DE NITROPRUSSIATO DE SÓDIO

4.7.1 Resposta do baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina.

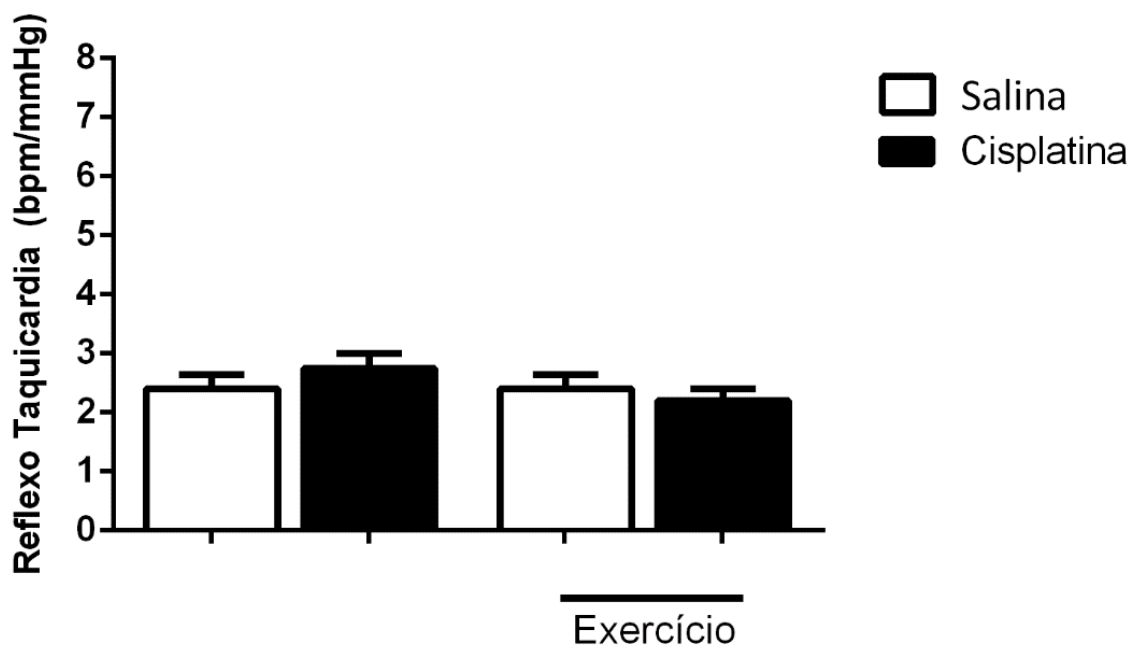
Na **figura 38**, observamos a resposta baroreflexa (razão entre a variação da frequência cardíaca e a variação da pressão arterial) após administração de nitroprussiato de sódio dos ratos Salina e Cisplatina, observamos que não houve diferença significativa entre os ratos Cisplatina comparado aos ratos Salina (Salina: $4,4 \pm 0,24$ bpm/mmHg vs Cisplatina: $2,7 \pm 0,2$ bpm/mmHg)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre o baroreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos teste *t* de Student não pareado.

4.7.2 Influência do exercício físico sobre o barorreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina.

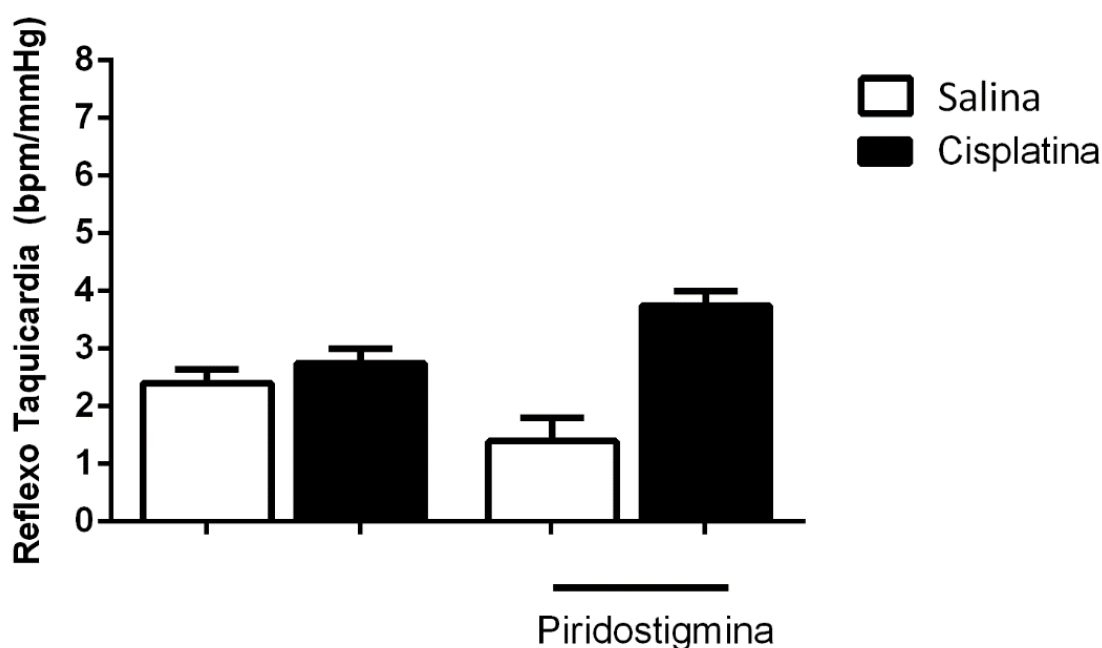
Na **figura 39**, mostramos o barorreflexo após administração de nitroprussiato de sódio de ratos Salina e Cisplatina, submetidos a exercício físico 5%. Mostramos ainda que o exercício não foi capaz de causar alterações de resposta baroreflexa após administração de fenilefrina em ratos Cisplatina (Cisplatina: $2,7 \pm 0,2$ bpm/mmHg vs Cisplatina+Exercício 5%: $2,2 \pm 1,4$ bpm/mmHg). Não observamos diferença entre todos os ratos salina.



Legenda: Influência do treinamento físico no barorreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Exercício (n=5); Cisplatina+Exercício 5% (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey.

4.7.3 Resposta do tratamento com piridostigmina sobre o barorreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 40**, observamos a resposta baroreflexa após a administração de nitroprussiato de sódio em ratos Salina e Cisplatina submetidos a tratamento com piridostigmina. Observamos ainda que não houve diferença significativa na resposta baroreflexa após administração de nitroprussiato de sódio entre os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina quando comparado aos ratos Cisplatina (Cisplatina: $2,7 \pm 0,2$ bpm/mmHg vs Cisplatina+Piridostigmina: $3,7 \pm 0,2$ bpm/mmHg). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.

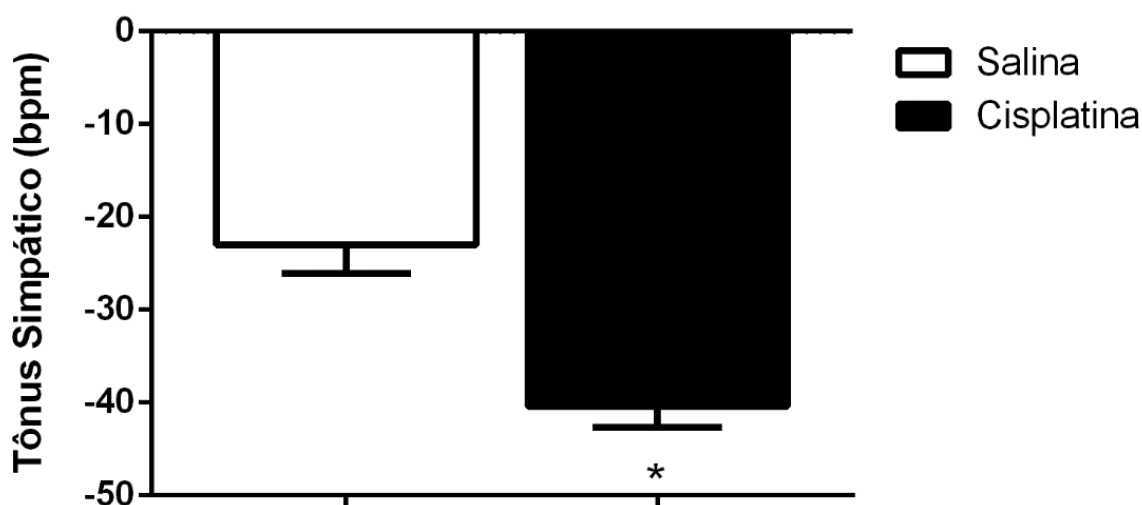


Legenda: Efeito da piridostigmina sobre o barorreflexo após administração de nitroprussiato de sódio em ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Piridostigmina (n=5); Cisplatina+Piridostigmina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey.

4.8 RESPOSTAS DO TÔNUS SIMPÁTICO

4.8.1 Resposta do tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina.

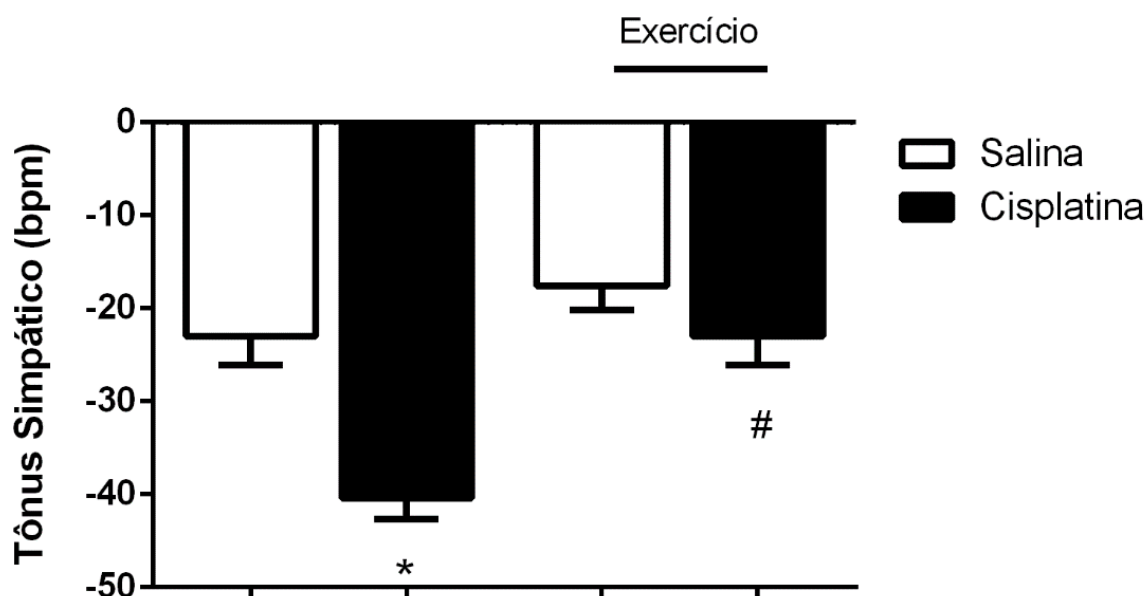
Na **figura 41**, mostramos o tônus simpático, resultante da administração de propranolol (i.v.), em ratos Salina e Cisplatina. Observamos que os ratos Cisplatina apresentaram diferença significativa comparado aos ratos Salina ($p < 0,05$) essa diferença foi destacada pelo aumento na variação de FC antes e após a administração de propranolol nos grupos citados. (Salina: $-23,0 \pm 3,1$ bpm vs Cisplatina: $-40,4 \pm 2,3$ bpm)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre o tônus simpático em ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos teste 't' de Student não pareado. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina

4.8.2 Influência do treinamento físico sobre o tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina.

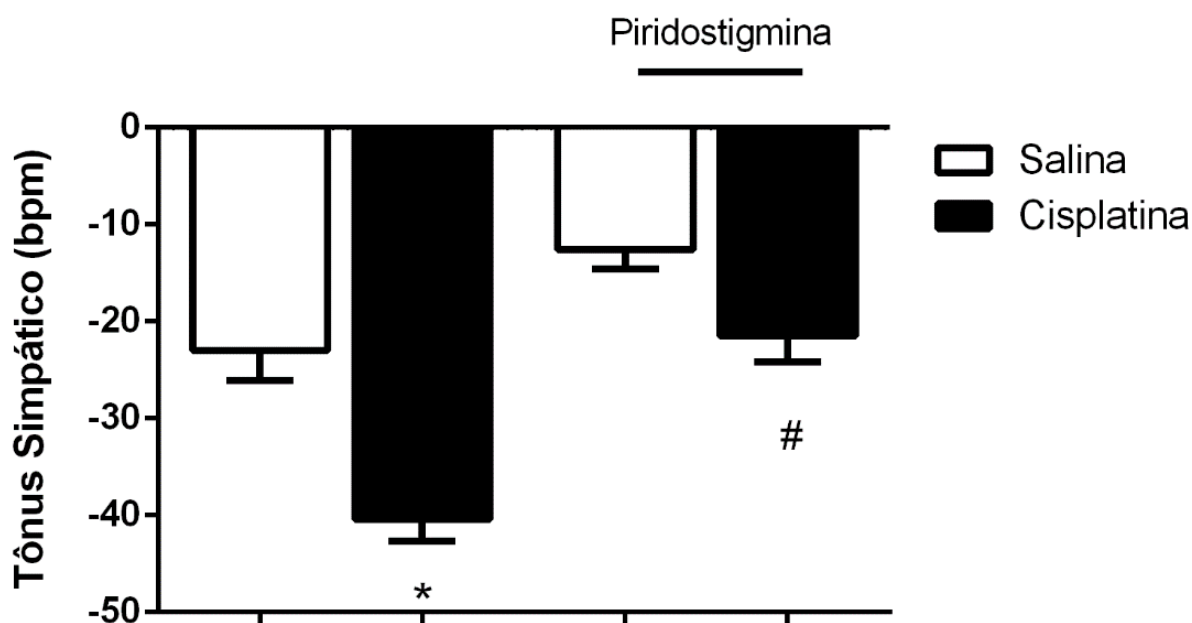
Na **figura 42**, mostramos o tônus simpático, resultante da administração de propranolol, em ratos do grupo Salina e Cisplatina, submetidos a exercício 5%. Mostramos ainda que houve diferença significativa nos ratos Cisplatina+Exercício quando comparados ao ratos Cisplatina ($p < 0,05$). Essa diferença foi observada pelo efeito preventivo do exercício sobre o aumento do tônus simpático do grupo Cisplatina (Cisplatina: $-40,4 \pm 2,3$ bpm vs Cisplatina+Exercício 5%: $-23,0 \pm 3,1$ bpm). Não observamos diferença entre todos os ratos salina



Legenda: Influência do treinamento físico sobre o tônus simpático em ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Exercício (n=5); Cisplatina+Exercício 5% (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício 5%..

4.8.3 Resposta da piridostigmina sobre tônus simpático em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 43**, observamos o tônus simpático, resultante da administração do propranolol, de ratos Salina e Cisplatina submetidos a piridostigmina. Observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre o aumento do tônus simpático dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $305,4 \pm 10,6$ bpm vs Cisplatina+Piridostigmina: $403,4 \pm 15,8$ bpm). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.



Legenda: Efeito da piridostigmina sobre o tônus simpático de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Piridostigmina (n=5); Cisplatina+Piridostigmina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

4.9 RESPOSTAS DO TÔNUS PARASSIMPÁTICO

4.9.1 Resposta do tônus parassimpático em ratos submetidos a indução com cisplatina.

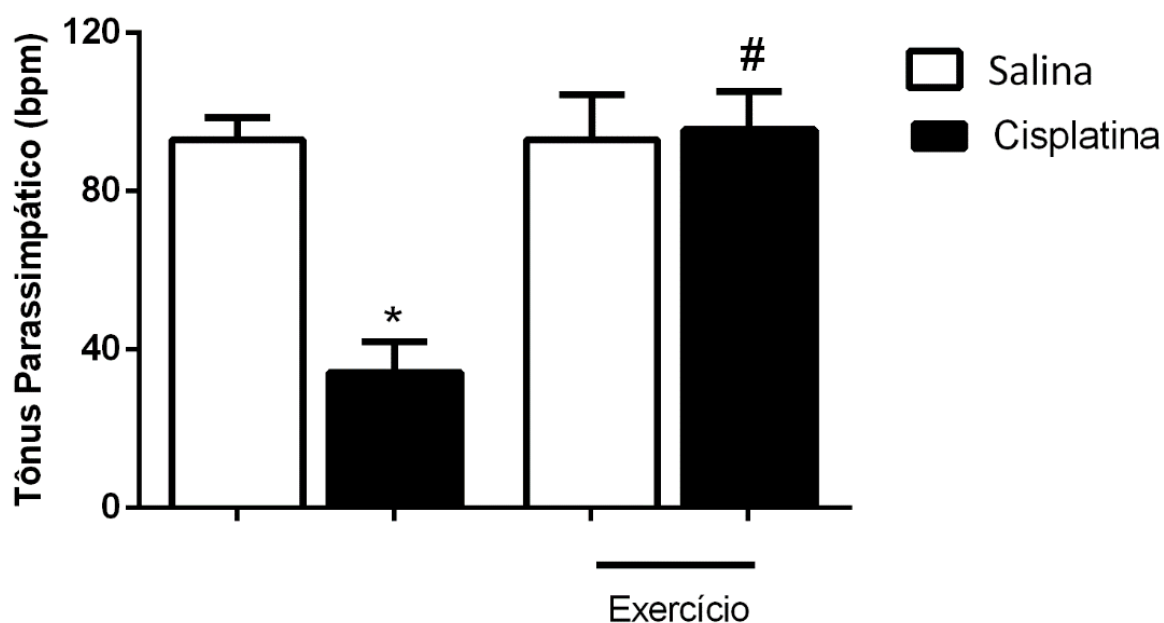
Na **figura 44**, mostramos o tônus parassimpático, resultante da administração de atropina (i.v.), em ratos Salina e Cisplatina. Observamos que os ratos Cisplatina apresentaram uma diminuição significativa da frequência cardíaca comparado aos ratos Salina ($p < 0,05$). (Salina: $93,0 \pm 5,7$ bpm vs Cisplatina: $34,20 \pm 3,5$ bpm)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre o tônus parassimpático em ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos teste 't' de Student não pareado. Significância: $p < 0,05$: * Salina vs Cisplatina

4.9.2 Influência do treinamento físico sobre o tônus parassimpático em ratos submetidos a indução com cisplatina.

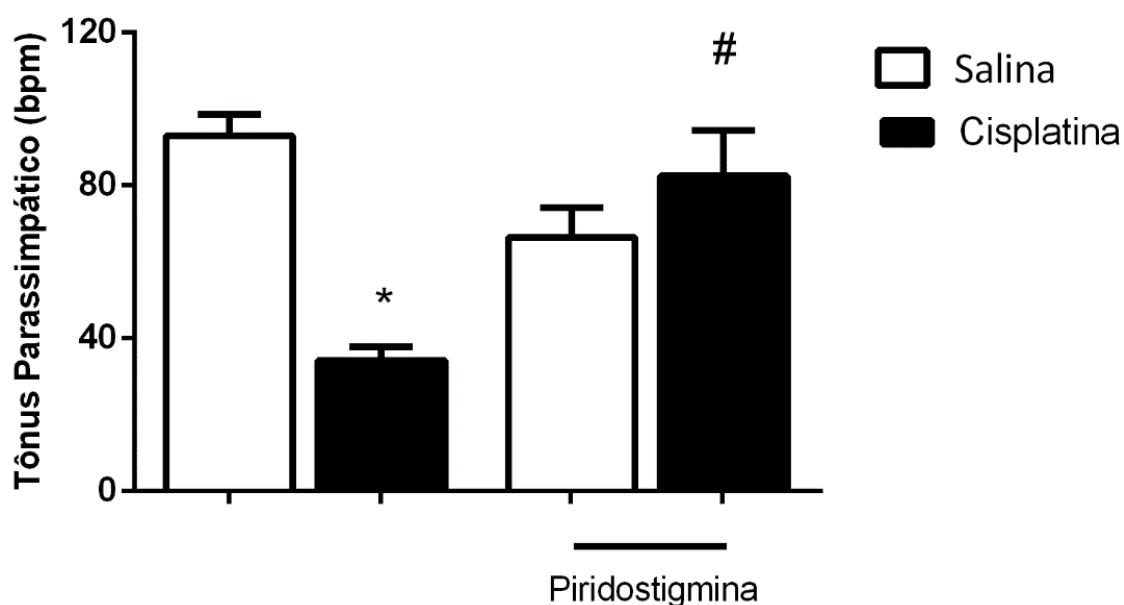
Na **figura 45**, mostramos o tônus parassimpático, resultante da administração de atropina, em ratos do grupo Salina e Cisplatina submetidos a exercício físico 5%. Mostramos ainda que houve um efeito preventivo ($p < 0,05$) nos ratos Cisplatina+Exercício sobre a diminuição do tônus parassimpático no ratos Cisplatina (Cisplatina: $34,2 \pm 3,5$ bpm vs Cisplatina+Exercício 5%: $95,5 \pm 4,8$ bpm). Não observamos diferença entre todos os ratos salina



Legenda: Influência do treinamento físico sobre o tônus parassimpático em ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Exercício (n=5); Cisplatina+Exercício 5% (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício 5%..

4.9.3 Resposta da piridostigmina sobre tônus parassimpático em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 46**, observamos o tônus parassimpático, resultante da administração de atropina, de ratos Salina e Cisplatina submetidos a piridostigmina. Observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição do tônus parassimpático dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $34,2 \pm 3,5$ bpm vs Cisplatina+Piridostigmina: $82,5 \pm 11,9$ bpm). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.

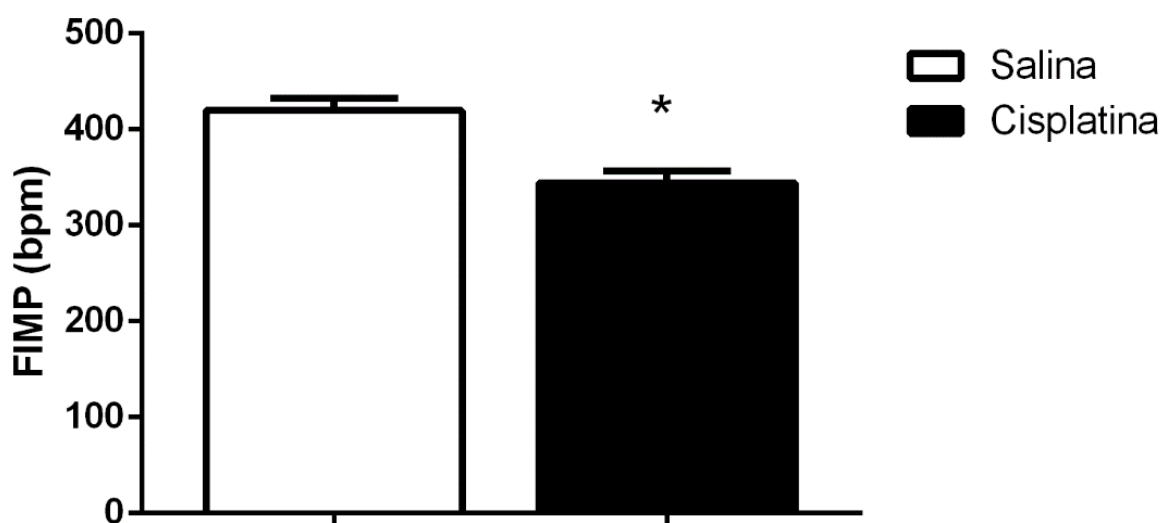


Legenda: Efeito da piridostigmina sobre o tônus parassimpático de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Piridostigmina (n=5); Cisplatina+Piridostigmina (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

4.10. RESPOSTAS FREQUÊNCIA INTRÍNSECA DE MARCAPASSO

4.10.1 Resposta da frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina.

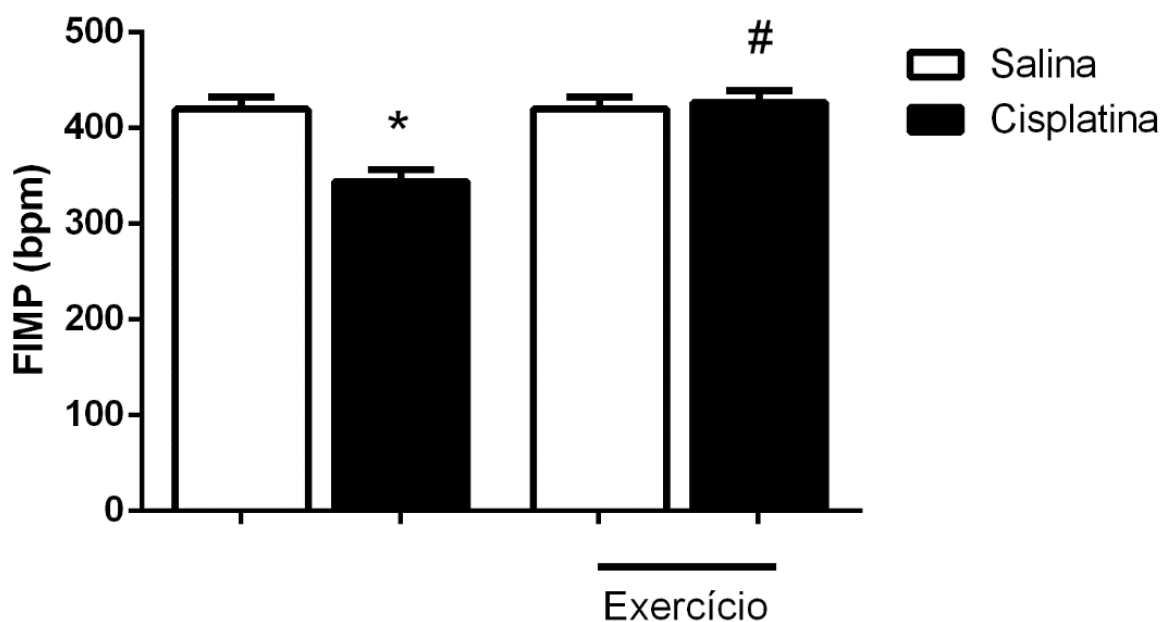
Na **figura 47**, mostramos a frequência intrínseca de marcapasso (FIMP) de ratos Salina e Cisplatina, observamos que os ratos Cisplatina apresentaram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na FIMP comparado aos ratos Salina (Salina: $419,6 \pm 12,7$ bpm vs Cisplatina: $344,4 \pm 12,4$ bpm)



Legenda: Efeito da cisplatina sobre a frequência intrínseca de marcapasso de ratos. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5). Os dados foram expressos em média \pm EPM, por teste 't' de Student não pareado. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina

4.10.2 Influência do treinamento físico sobre a frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina.

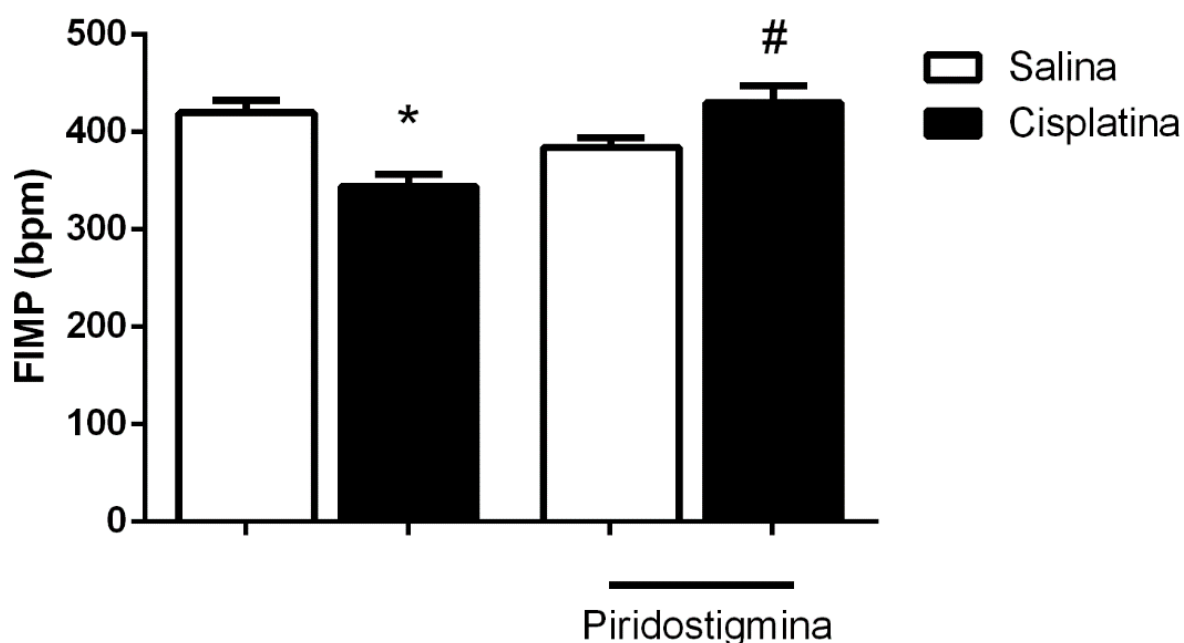
Na **figura 48**, mostramos a frequência intrínseca de marcapasso (FIMP) de um rato Salina e Cisplatina, submetidos a exercício físico 5%. Mostramos ainda que houve diferença significativa nos ratos Cisplatina+Exercício quando comparados aos ratos Cisplatina (Cisplatina: $344,4 \pm 12,4$ bpm vs Cisplatina+Exercício 5%: $426,8 \pm 12,7$ bpm). Não observamos diferença entre os ratos Salina e Exercício.



Legenda: Influência do treinamento físico na frequência intrínseca de marcapasso de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Exercício (n=5); Cisplatina+Exercício 5% (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise dos dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Exercício.

4.10.3 Resposta da piridostigmina sobre frequência intrínseca de marcapasso em ratos submetidos a indução com cisplatina.

Na **figura 49**, observamos a frequência intrínseca de marcapasso de ratos Salina e Cisplatina submetidos a tratamento com piridostigmina. Observamos ainda que os ratos do grupo Cisplatina+Piridostigmina apresentam um efeito preventivo ($p < 0,05$) sobre a diminuição da FIMP dos ratos Cisplatina (Cisplatina: $344,4 \pm 12,4$ bpm vs Cisplatina+Piridostigmina: $430,3 \pm 17,2$ bpm). Não observamos alterações em todos os valores dos ratos salina.



Legenda: Efeito da piridostigmina sobre a frequência intrínseca de marcapasso de ratos cisplatina. Grupos Experimentais: Salina (n=5); Cisplatina (n=5); Piridostigmina (n=5); Cisplatina+Piridostigmina (n=7). Os dados são expressos em média \pm EPM, para análise de dados utilizamos análise de variância ANOVA, seguido por teste de Tukey. Significância: * $p < 0,05$: Salina vs Cisplatina; # $p < 0,05$: Cisplatina vs Cisplatina+Piridostigmina.

Discussão

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, observamos que o uso crônico de cisplatina promoveu uma diminuição do esvaziamento gástrico, assim com aumento da pressão arterial e alteração na sensibilidade ao barorreflexo em ratos. Tais alterações foram prevenidas tanto pela prática de exercício físico de intensidade moderada como pela administração de piridostigmina. Em estudos de contratilidade (*in vitro*) observamos alterações na responsividade ao carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundo de estômago, onde os ratos que fizeram uso de cisplatina apresentaram uma menor força de contração comparados aos ratos controle e que após o exercício e o tratamento com cisplatina a responsividade foi recuperada.

A cisplatina é um fármaco antineoplásico utilizado no tratamento de câncer de bexiga, ovário, testículo, vários estudos têm demonstrados a capacidade de indução de dismotilidade por este fármaco (CABEZOS et al, 2010). No entanto, apesar de ser imensamente estudada, pouco se sabe sobre os efeitos do exercício físico e da piridostigmina sobre a dismotilidade induzida por cisplatina em ratos. Em um estudo realizado por Pezzuolo et al (2010) foi demonstrado que o uso de 20 mg/m² de cisplatina, nos 3 primeiros dias de um ciclo de 21 dias de quimioterápicos, tiveram como efeito colateral a toxicidade gastrointestinal. Nos estudos sobre dismotilidade gastrointestinal induzida por cisplatina em ratos, Nelson et al (1993) relataram que o retardo no esvaziamento gástrico pode ser responsável, em parte, por anorexia, saciedade precoce, diminuição de peso e náuseas associadas ao tratamento do câncer. De acordo com Cabezos et al (2008), estes afirmaram no seus estudos a inibição dose-dependente no esvaziamento gástrico, refletida por acúmulo de alimento e diminuição do trânsito intestinal, em ratos tratados com 3 mg/Kg de cisplatina, intraperitoneal, mensurados por métodos radiológicos. Cardoso et al (2011) relata que as alterações autonômicas induzidas por cisplatina podem ser responsáveis pelo retardo no esvaziamento gástrico, na motilidade intestinal e constipação que surgem durante o tratamento com esses quimioterápicos

No presente estudo, verificamos que a cisplatina administrada via intraperitoneal na dose de 3 mg/Kg, 1 vez por semana, durante 5 semanas, aumentou a taxa de retenção gástrica. Reis et al. (1998) demonstra em seus resultados que o aumento da retenção gástrica pode estar relacionada a uma disautonomia caracterizada pelo aumento da atividade simpática e diminuição da atividade

parassimpática no trato gastrointestinal, tais repercussões representam um efeito colateral do antineoplásico sobre o sistema gastrointestinal (QIAN et al, 1996). Além disso, esse efeito de aumento da retenção gástrica foi atenuado pelo exercício físico. Esses resultados sugerem uma maior ativação do sistema nervoso simpático pela administração de cisplatina e uma diminuição da retenção gástrica pelo efeito do exercício físico por aumentar a atividade parassimpática. Nossos resultados corroboram com os achados de Miyagi et al (2014), onde foi relatado um retardo no esvaziamento gástrico em ratos, e que esse efeito foi atenuado pelo exercício físico, sugerindo que o aumento da atividade parassimpática promovido pelo exercício físico diminui a retenção gástrica em ratos.

Existem diversos antineoplásicos que induzem disautonomia no organismo, entre eles os mais estudados são os modelos experimentais induzidos pela administração de cisplatina e vincristina. Nesse estudo optamos por o estudar o efeitos da cisplatina, o qual se caracteriza principalmente por induzir a disautonomia , conduzindo uma série de efeitos que afetam o sistema gastrointestinal causando aumento da dismotilidade, bem como o sistema cardiovascular, desencadeando aumento da disfunção barorreflexa (SAKAI et al, 2017) e maior ativação do sistema nervoso simpático (CARDOSO et al, 2011). Neste estudo trabalhamos com um período de 5 semanas, que foi o período de tempo de administração para indução de dismotilidade com cisplatina (ABALO et al., 2009 e CABEZOS et al., 2010)

A fim de evidenciar a presença de disautonomia induzida por cisplatina ao nível das respostas cardiovasculares, realizamos a mensuração da pressão arterial média (PAM, mmHg) e da frequência cardíaca (FC, bpm) que foram registradas a partir da pressão de pulso dos animais através da canulação da artéria femoral. Posteriormente, a cânula foi conectada ao sistema Powerlab e o registro foi realizado. A veia femoral também foi canulada para administração de fenilefrina e nitroprussiato e sódio para avaliação do baroreflexo, bem como atropina e propranolol para análise do tônus simpático e parassimpático. Foi realizada também a implantação de eletrodos subcutâneos para registro do eletrocardiograma, a partir disso foi feita a mensuração indireta do tônus simpático e parassimpático através do LF, HF e LF/HF.

Inicialmente, demonstramos que a cisplatina apresentou, como já descrito na literatura (CARDOZO et al, 2011; GONDIN et al, 1998) elevação da PAM. Muitos mecanismos promovidos pelo desenvolvimento de disautonomia estão envolvidos nos

efeitos cardiovasculares. A disautonomia caracteriza-se pela hiperatividade simpática e diminuição da atividade parassimpática. (REIS et al, 1998) Estudos anteriores mostraram que o aumento da atividade simpática promovido pela administração a longo prazo do quimioterápico são, em grande parte, responsáveis pelo aumento da pressão arterial. (MACHADO et al, 2017). Dehghan et al. (2016) sugerem que a disfunção endotelial, a vasoconstrição arterial e piora da função renal sejam os responsáveis pelo aumento da pressão arterial.

Além disso, verificamos também que os ratos que tinham aumento de pressão apresentaram retenção gástrica aumentada, sugerindo que este efeito pode estar relacionado com disautonomia induzida pela administração de cisplatina, durante o período de estudo, conseqüentemente induzindo o aumento da atividade simpática sobre o TGI. Segundo Daher e colaboradores (2008) os ratos cisplatina apresentam maior taxa de retenção gástrica quando comparados aos ratos salina, e esse efeito está relacionado a distúrbios no sistema nervoso autônomo, incluindo aumento da atividade simpática, hipofunção parassimpática e, que essa repercussão está diretamente relacionada com a pressão arterial.

Além disso, foi demonstrado que a cisplatina tem efeito sobre a liberação de serotonina a partir das células enterocromafins no trato gastrointestinal (ANDREWS et al., 1988; CUBEDDU, 1992.) A liberação de serotonina, também conhecido como 5-hidroxitriptamina, ativa os receptores periféricos de 5-HT₃ nas fibras vagais aferentes e causa relaxamento do estômago, possivelmente levando ao retardo do esvaziamento gástrico (Andrews et al., 1990; Yoshioka et al., 1990). Essa monoamina desempenha importante função fisiológica como neurotransmissor, vasoconstritor e regulador da atividade dos músculos lisos (GERSHON et al, 2000). Sangeetha et al., (1990) relataram que houve aumento na geração de radicais livres após a administração de cisplatina. Este quimioterápico promove a liberação de superóxidos, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio *in vitro* (Sodhi e Gupta, 1986; Masuda et al., 1994). Matsuki e colaboradores (1993) sugeriram que os radicais livres sejam produzidos no intestino, provavelmente nas células de enterocromafins e que,subseqüentemente, ocorra a liberação de serotonina. Esta serotonina pode atuar em receptores periféricos de 5-HT₃, para relaxar o estômago. Isso sugere que a serotonina, além de apresentar ação sobre o sistema nervoso e endócrino, também

tem importância na regulação gástrica e que a cisplatina tem efeito sobre ela, como evidenciamos nesse estudo.

No presente estudo, optamos por trabalhar com exercício físico de natação durante 5 semanas, o mesmo período de administração de cisplatina, com sobrecarga de 5% do peso corporal de cada animal. A utilização de diferentes intensidades de sobrecarga é comum em protocolos de natação para ratos e a maioria dos estudos faz uso de sobrecargas entre 5% e 8% de peso corporal. (PEREIRA et al., 1994; GALDINO et al., 2000). Este modelo de exercício físico encontra-se descrito na literatura associado ao protocolo de administração de cisplatina onde foram demonstrados que o treinamento físico apresenta respostas sobre o trato gastrointestinal e sistema cardiovascular (JESEN et al, 2014; SAKAI et al, 2017)

Nossos resultados demonstraram que o grupo cisplatina tratado com exercício físico apresentou redução dos índices de retenção gástrica. Isso ocorreu provavelmente, devido à diminuição da atividade simpática e aumento da atividade parassimpática o que resultou em aumento do trânsito intestinal por estimular a contração da musculatura lisa.

Além desses efeitos sobre a motilidade gástrica, os ratos do grupo cisplatina submetidos ao exercício físico apresentaram diminuição da PAM e FC. Os benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos após o exercício físico agudo ou crônico têm levado muitos investigadores a sugerir o treinamento físico como conduta não farmacológica (HASKELL et al, 2007). Vários estudos já apontam os efeitos do exercício físico regular em prevenir ou atenuar mudanças que ocorrem nos mecanismos autonômicos de controle cardiovascular (onde estão esses vários estudos)?????. Mostarda e colaboradores (2009) afirma que a diminuição da pressão arterial é acompanhada pela redução do volume sistólico e diastólico, refletindo em diminuição do trabalho cardíaco. Considerando a disfunção autonômica como um dos efeitos colaterais da administração de cisplatina, estudos tem sugerido que a redução da pressão arterial pode estar associada a melhora da função autonômica. Um estudo realizado por Stein et al (2009) observou considerável aumento da variabilidade da frequência cardíaca após o período de treinamento físico em idosos. Além disso, outros estudos evidenciam melhor sensibilidade barorreflexa em indivíduos fisicamente ativos em relação aos sedentários (CATER et al, 2003). Esses resultados corroboram com nossos achados no qual observamos redução da

PAM e FC dos animais do grupo cisplatina submetidos ao exercício físico e também um aumento na variabilidade da frequência cardíaca e sensibilidade barorreflexa em comparação aos ratos cisplatina. Esses achados de melhora de função autonômica em animais treinados pode estar relacionado à melhora da complacência arterial que poderia contribuir para a atenuação progressiva da elevação da PA sistólica, redução da PA diastólica e melhora da função ventricular esquerda, alterando a perfusão coronariana (TANAKA et al, 2000; KARIO et al, 2003)

Posteriormente, realizamos a análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), esta análise consiste em uma ferramenta indireta que decompõe sinais cardiovasculares em seus componentes de frequência cardíaca e quantifica a influência de cada componente (MALLIAM et al, 1991). Observamos que o exercício físico, realizados durante 5 semanas, aumenta a potência das oscilações de alta frequência (High Frequency - HF), componente relacionado a modulação vagal do sistema nervoso parassimpático (CHESS; TAM; CALARESU, 1975; KITNEY; ROMPELMAN, 1980; AKSELROD et al., 1981) e diminui as oscilações de baixa frequência (Light Frequency - LF), componente relacionado a atividade do sistema nervoso simpático. Dela et al (2003) cita em seus estudos que a atividade física promove uma hiperatividade parassimpática o que promove um aumento da VFC. Nossos resultados sugerem que as alterações fisiológicas cardiovasculares que acontecem no organismo submetido ao exercício físico regular tende a atenuar o quadro de disautonomia induzido pela cisplatina.

O sistema nervoso central comunica-se com o sistema cardiovascular e trato gastrointestinal através da inervação parassimpática pelo nervo vago, essa ligação influencia significativamente a função secretora do estômago bem como as respostas cardiovasculares. (QIAN; DANIELSSON; ELSALHY, 1996). A hiperatividade parassimpática está relacionada ao aumento da motilidade gástrica e diminuição da PA e FC com conseqüente aumento da variabilidade da frequência cardíaca. (ENDO et al., 2002; QIAN; DANIELSSON; ELSALHY, 1996). Nossos resultados sugerem que o treinamento físico provoca um equilíbrio autonômico cardíaco, caracterizado pela predominância do tônus parassimpático sobre o simpático.

Como já foi descrita anteriormente, a disautonomia caracteriza-se pela hiperatividade simpática e diminuição da atividade parassimpática. Inibidores da acetilcolinesterase, como donepezila e piridostigmina, têm sido usados em

experimentos para aumentar a atividade parassimpática. (ref). Tais resultados mostram melhora da função cardíaca e remodelamento cardíaco atenuado em modelos de insuficiência cardíaca. (HANDA et al, 2009; LATARO et al, 2013; SUGIMOTO et al, 2001). A piridostigmina é um agente antiacetilcolinesterásico reversível que não atravessa a barreira hematoencefálica e atua especificamente nas fendas sinápticas periféricas (TAYLOR et al, 2001). O donepezila atravessa a barreira hematoencefálica e tem sido usado no tratamento da doença de Alzheimer (SUGIMOTO, 2001). Em nossas análises optamos por estudar a piridostigmina por ser uma droga anticolinesterásica de ação periférica e também por estar sendo amplamente estudada nos últimos anos. A piridostigmina é uma amina quaternária que atua como um inibidor reversível da acetilcolinesterase e como consequência de sua ação aumenta os níveis de acetilcolina endógena e assim na fenda sináptica (GOODMAN & GILMAN, 2010). Atua no sistema nervoso periférico e possui ação sistêmica, determinando diversos efeitos adversos. Os sistemas mais afetados são o trato gastrointestinal, o sistema cardiovascular e neuromuscular. Dentre os efeitos adversos gastrointestinais destacam-se náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal, que podem como consequência levar a anorexia e perda de peso. (MORGANROTH, 2002). Nos nossos estudos observamos uma redução na retenção gástrica em ratos do grupo cisplatino submetidos ao tratamento com piridostigmina. Sugerimos que esse aumento da motilidade gástrica resultante do tratamento com o anticolinesterásico tenha ocorrido devido ao aumento do tônus vagal nas fibras que inervam o trato gastrointestinal consequente ao aumento dos níveis de acetilcolina na fenda sináptica, o que pode ter promovido aumento da atividade parassimpática.

Além de repercussões no trato gastrointestinal, a piridostigmina influencia fortemente o sistema cardiovascular, existem vários estudos que relatam essa ação (CORRÊA et al, 2014; DURAND et al, 2014). Lataro et al (2015) demonstrou em seus estudos que a piridostigmina melhorou o tônus vagal cardíaco e preveniu o remodelamento cardíaco, embora não tenha conseguido reduzir os níveis de pressão arterial elevada. Em nossos resultados a piridostigmina diminuiu a PAM em animais do grupo cisplatina e aumento da FC. O mesmo foi observado nos estudos de Corrêa et al (2014) onde a piridostigmina apresentou caráter preventivo causando diminuição da PAM bem como aumento da FC uma semana após infarto agudo do miocárdio.

Em relação ao componente LF e HF, a piridostigmina promoveu um aumento do componente HF demonstrando o aumento da atividade parassimpática pelo aumento dos níveis de acetilcolina na fenda sináptica. McLaren e colaboradores observaram redução estatisticamente significativa no componente LF durante o tratamento e aumento do valor normalizado de HF, esses resultados refletem uma potencialização do tônus vagal com a maior disponibilidade de ACh determinada pela PYR. Durand et al (2014) demonstrou em seu estudo que o aumento da disponibilidade de acetilcolina periférica após o bloqueio da acetilcolinesterase com PYR promoveu a ocorrência de taquicardia, aumento do tônus simpático parassimpático e diminuição do tônus simpático após o IM em camundongos. A interação entre o sistema nervoso simpático e parassimpático também pode ser parcialmente modulada por segundos mensageiros em células cardíacas, onde a estimulação colinérgica pode inibir o aumento de AMPc intracelular, inibindo a cascata de sinalização adrenérgica. (VANHOUTTE, 1980)

Anormalidades nos reflexos cardiovasculares são observados no desequilíbrio do balanço autonômico, bem como a atenuação do barorreflexo (ZUCKER et al, 2012). O desarranjo no controle autonômico cardiovascular envolve o aumento dos reflexos simpato-excitatórios, incluindo reflexos cardíacos simpáticos aferentes. Segundo Kar et al (2011) a insuficiência cardíaca congestiva produz uma atenuação do barorreflexo em animais. O mesmo foi observado em nossos estudos com a cisplatina, onde este quimioterápico causou uma diminuição na resposta barorreflexa após do teste com fenilefrina. Foi demonstrado que a piridostigmina tem efeito modulatório no balanço simpatovagal indicando que possui efeitos benéficos nos reflexos cardiovasculares. Foi observado efeito protetor da piridostigmina no controle autonômico e função cardíaca 4 semanas após o início de falha cardíaca em ratos.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

- A cisplatina provoca aumento de retenção gástrica em ratos;
- O exercício físico preveniu o aumento da retenção gástrica em ratos submetidos a indução de dismotilidade com cisplatina;
- A piridostigmina diminuiu a retenção gástrica em ratos submetidos a indução de dismotilidade com cisplatina;
- Os animais submetidos a indução de dismotilidade com cisplatina apresentam menor força de contração em tiras de fundo gástrico em relação aos animais salina, no entanto, esse efeito é atenuado pelo exercício físico, que aumenta a capacidade de resposta contrátil deste tecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, R.; MIRZA, Z.; ASHARAF, G.M.D.; KAMAL, M.A.; ANSARI, S.A.; DAMANHOURI, G.A.; ABUZENADAH, A.M.; CHAUDHARY, A.G.; SHEIKH, I.A. New anticancer agentes: recente developments in tumor therapy. **Anticancer Research**.v.32,p.2999-3006, 2012.

BI, L.; TRIADAFILOPOULOS, G. Exercise and Gastrointestinal Function and Disease: An Evidence-Based Review of Risks and Benefits. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v.1, p.345–355. 2003.

PETERS, H.P.; BOS, M.; SEEBREGTS. L.; AKKERMANS, L.M.; VAN BERGE HENEGOUWEN, G.P.; BOLE, et al. Gastrointestinal symptoms in long-distance runners, cyclists, and triathletes: prevalence, medication, and etiology. **J Gastroenterol**; v.94, p.1570–1581, 1999.

PETERS, H.P.; AKKERMANS, L.M.; BOL, E. et al. Gastrointestinal symptoms during exercise. The effect of fluid supplementation. **Sports Med** ;v.20, p.65–76, 1995.

LIRA, C. A. B.; VANCINI, R. L.; DA SILVA, A. C.; NOVAILHETAS, V. L. A. Efeitos do exercício físico sobre o trato gastrintestinal. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 14, n.1, jan./fev. 2008

LEIPER, J.B.; NICHOLAS, CW, ALI A, WILLIAMS C, MAUGHAN RJ. The effect of intermittent high-intensity running on gastric emptying of fluids in man. **Med Sci Sports Exerc**. v.37, n.2, p.240-7, 2005.

ABU-QARE, A.W.; ABOU-DONIA, M.B. Determination of depleted uranium, pyridostigmin bromide and its metabolite in plasma and urine following combined administration in rats. **Pharm Biomed Anal**, 26:281–289, 2001.

CASTRO, R.R.T.; SERRA, S.M.; NÓBREGA, A.C.L. Reduction of Qtc interval dispersion. Potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. **Arq Bras Cardiol**, 75:210-213, 2000.

CASTRO, R.R.; PORPHIRIO, G.; SERRA, S.M.; NOBREGA, A.C. Cholinergic stimulation with pyridostigmine protects against exercise induced myocardial ischaemia. **Heart**, 90:1119-1123,2004.

BERTINIERI, G.; DI RIENZO, M.; CAVALLAZZI, A.; FERRARI, A.U.; PEDOTTI, A.; MANCIA, G. A new approach to analysis of the arterial baroreflex. **Hypertens Suppl**. 1985.

BEHLING, A.; MORAES, R.S.; ROHDE, L.E.; FERLIN, E.L.; NÓBREGA, A.C.; RIBEIRO, J.P. Cholinergic stimulation with pyridostigmine reduces ventricular arrhythmia and enhances heart rate variability in heart failure. **Am Heart J** 2003; 146: 494-500.

CUMMINGS, J.L. 2000. Cholinesterase inhibitors: A new class of psychotropic compounds. **The American Journal of Psychiatry** 157: 4-15

DECATRIS, M.P.; SUNDAR, S.; O'BYRNE, K.J. 2004. Platinum-based chemotherapy in metastatic breast cancer: current status. **Cancer Treat. Rev.** 30, 1, 53-81.

NELSON, G.; LUCERO, C.A.; CHU, P.; NATION, J.; GHATAGE, P. 2010. Intraperitoneal chemotherapy for advanced ovarian and peritoneal cancers in patients following interval debulking surgery or primary cytoreductive surgery: Tom Baker Cancer Centre experience from 2006 to 2009. **J. Obstet. Gynaecol. Can.** 32, 3, 263-269

PEZZUOLO, D.; PENNUCCI, M.C.; MAMBRINI, A.; PACETTI, P.; ORLANDI, M.; TARTARINI, R.; DEL FREO, A.; CANTORE, M. 2010. Low dose fractionated Cisplatin plus gemcitabine for elderly patients with advanced non small cell lung cancer: a retrospective analysis. **J. Chemother.** 22, 4, 275- 279.

ROSENBERG, B. Fundamental studies with cisplatin. **Cancer**, New York, v.55, p.2303-16,1985

COHEN, S. M.; LIPPARD, S. J. Cisplatin: from DNA damage to câncer chemotherapy. Prog. Nucleic Acid Res. **Mol. Biol.**, New York, v. 67, p. 93-130, 2001

SCHNELLMANN, R. G. Toxic Responses of the kidney. In: KLAASSEN, C. D. Casarett & Doull's toxicology. **The basic Science of poisons**. New York: McGraw-Hill, 2001

HALABE, A.; WONG, N. L. M.; SUTTON, R. A. L. Effect of chronic cisplatin administration on phosphate and glucose transport by the renal brush border membrane. **Nephron Basel**, 1991.

ZWELLING, L. A.; KOHN, L. W. Mechanism of action of cisdiammineplatinum-II. **Cancer Treat. Rep.**, Bethesda, 1979.

EASTMAN, A. The mechanism of action of cisplatin: from adducts to apoptosis. New York: Wiley-VCH, 1999.

CORNELISON, T.L.; REED, E. 1993. Nephrotoxicity and hydration management for cisplatin, carboplatin, and ormaplatin. **Gynecol. Oncol.** 50, 2, 147-158.

BOOGERD, W.; TEN BOKKEL HUIJINK, W.W.; DALESIO, O.; HOPPENBROUWERS, W.J.; VAN DER SANDE, J.J. Cisplatin induced neuropathy: central, peripheral and autonomic nerve involvement. **J. Neuro-Oncol.**, 9, 3, 255-263. 1990.

CANO, J.R.; CATALÁN, B.; JARÁ, C. 1998. Neuronopathy due to cisplatin. **Ver. Neurol.**, 27, 158, 606-610

ROELOFS, R.I.; HRUSHESKY, W.; ROGIN, J.; ROSENBERG, L. 1984. Peripheral sensory neuropathy and cisplatin chemotherapy. **Neurology**, 34, 7, 934-938.

THOMPSON, S.W.; DAVIS, L.E.; KORNFELD, M.; HILGERS, R.D.; STANDEFER, J.C. 1984. Cisplatin neuropathy. Clinical, electrophysiologic, morphologic, and toxicologic studies. **Cancer**, 54, 7, 1269–1275.

SMOORENBURG, G.F.; DE GROOT, J.C.; HAMERS, F.P.; KLIS, S.F. 1999. Protection and spontaneous recovery from cisplatin-induced hearing loss. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 884, 192- 210

GANDARA, D.R.; PEREZ, E.A.; WEIBE, V.; DE GREGORIO, M.W. 1991. Cisplatin chemoprotection and rescue: pharmacologic modulation of toxicity. **Semin. Oncol.** 18 (1 Suppl 3), 49-55.

CABEZOS, P.A.; VERA, G.; MARTIN-FONTELLES, M. I.; FERMADEZ-PUJOL, R. ABALO, R. Cisplatin-induced gastrointestinal dysmotility is aggravated after chronic administration in the rat. Comparison with pica. **Neurogastroenterol. Motil.** 2010.

HUANG, H.; ZHU, L.; REID, B.R.; DROBNY, G.P.; HOPKINS, P.B. 1995. Solution structure of a cisplatin-induced DNA interstrand cross-link. **Science**, 270, 5243, 1842-1845.

NELSON, K.A.; WALSH, T.D.; SHEEHAN, F.G. 2002. Cancer and chemotherapy-related upper gastrointestinal symptoms: the role of abnormal gastric motor function and its evaluation in cancer patients. **Support. Care Cancer** 10, 455-461

RICHARDSON P.; CANTWELL B.M. 1990. Autonomic neuropathy after cisplatin based chemotherapy. **Br. Med. J.**, 2, 300, 1466-1467.

SCHILLER, J.H. 1996. High-dose cisplatin and vinblastine plus amifostine for metastatic nonsmall cell lung cancer. **Semin. Oncol.** 23, 4 Suppl 8, 78-82.

SHIN, D.M.; GLISSON, B.S.; KHURI, F.R.; GINSBERG, L.; PAPADIMITRAKOPOULOU, V.; LEE, J.J.; LAWHORN, K.; GILLENWATER, A.M.; ANG, K.K.; CLAYMAN, G.L.; CALLENDER, D.L.; HONG, W.K.; LIPPMAN, S.M. 1998. Phase II trial of paclitaxel, ifosfamide, and cisplatin in patients with recurrent head and neck squamous cell carcinoma. **J. Clin. Oncol.** 16, 4, 1325-1330

BRADNER, W.T.; SCHURIG, J.E. 1981. Toxicology screening in small animals. **Cancer Treat. Rev.**, 8, 2, 93-102.

CABEZOS, P.A.; VERA, G.; CASTILLO, M.; FERNÁNDEZ-PUJOL, R.; MARTÍN, M.I.; ABALO R. 2008. Radiological study of gastrointestinal motor activity after acute cisplatin in the rat. Temporal relationship with pica. **Auton. Neurosci.**, 141, 1-2, 54 - 65

VERDÚ, E.; VILCHES, J.J.; RODRÍGUEZ, F.J.; CEBALLOS, D.; VALERO, A.; NAVARRO, X. 1999. Physiological and immunohistochemical characterization of cisplatin-induced neuropathy in mice. **Muscle Nerve**, 22, 3, 329-340.

CHEY, R.D.; LEE, K.Y.; ASBURY, R.; CHEY, W.Y. 1988. Effect of cisplatin on myoelectric activity of the stomach and small intestine in dogs. **Dig Dis Sci**, 33, 3, 338-344.

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

VANDERTOP, W.P.; DE VRIES, W.B.; NOTERMANS, N.C.; NIJSEN, M.J.; DE WILDT, D.J.; TULLEKEN, C.A.; GISPEN, W.H. 1996. Cisplatin-induced autonomic neuropathy: does it really exist? **Neurooncol.**, 27, 1, 53-60

OKAZAKI, Y.; ZHENG, C.; LI, M.; SUGIMACHI, M. Effect of the cholinesterase inhibitor donepezil on cardiac remodeling and autonomic balance in rats with heart failure. **J Physiol Sci** 60: 67–74, 2010.

TAYLOR, P. Anticholinesterase agents. In: Goodman and Gilman's, **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, edited by Hardman, J.G., Limbird, L.E., and Gilman, A.G. New York: McGraw-Hill, 175–192, 2001.

CASTRO, R. R. T.; SERRA, S. M.; NÓBREGA, A. C. L. Reduction of Qtc interval dispersion. Potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. **Arq Bras Cardiol**, 75:210-213, 2000.

DEWLAND, T. A.; ANDRONE, A. S.; LEE, F. A.; LAMPER, T R. J.; KATZ, S. D. Effect of acetylcholinesterase inhibition with pyridostigmine on cardiac parasympathetic function in sedentary adults and trained athletes. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 293: H86–H92, 2007.

BEHLING, A.; MORAES, R. S., ROHDE, L. E., FERLIN, E. L., NÓBREGA, A. C., RIBEIRO, J. P. Cholinergic stimulation with pyridostigmine reduces ventricular arrhythmia and enhances heart rate variability in heart failure. **Am Heart J** 146: 494–500, 2003.

ANDRONE, A. S.; HRYNIEWICZ, K.; GOLDSMITH, R.; ARWADY, A.; KATZ, S. D. Acetylcholinesterase inhibition with pyridostigmine improves heart rate recovery after maximal exercise in patients with chronic heart failure. **Heart** 89: 854–858, 2003.

SERRA, S. M.; COSTA, R. V.; CASTRO, R. R. T.; XAVIER, S. S.; NÓBREGA, A. C. Cholinergic stimulation improves autonomic and hemodynamic profile during dynamic exercise in patients with heart failure. **J Card Fail** 15: 124–129, 2009.

SABINO, J. P.; SILVA, C. A.; MELO, R. F.; FAZAN, R. J. R.; SALGADO, H.C. The treatment with pyridostigmine improves the cardiocirculatory function in rats with chronic heart failure. **Auton Neurosci** 173: 58–64, 2013.

NOBREGA, A. C.; DOS REIS, A. F.; MORAES, R.S.; BASTOS, B.G.; FERLIN, E.L.; RIBEIRO, J.P. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. **Clin Auton Res** 11: 11–17, 2001.

GOMES, E. C.; SILVA, A. N.; OLIVEIRA, M. R. Oxidants, Antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 12, 2012.

BI, L.; TRIADAFILOPOULOS, G. Exercise and Gastrointestinal Function and Disease: na Evidence-Based Review of Risks and Benefits. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v.1, p.345–355. 2003.

FREITAS, A.K.L. Efeito da suplementação com alanil-glutamina nas alterações da permeabilidade intestinal em ratos treinados submetidos a um exercício prolongado e exaustivo de natação. Programa de pós-graduação em farmacologia. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará. 2013.

PETERS, H.P.; DE VRIES, W.R.; AKKERMANS, L.M.; VAN BERGHE- HENEGOUWEN, G.P.; KOERSELMAN, J.; WIERSMA, J.W.; BOL, E.; MOSTERD, W.L. Duodenal motility during a run-bikerun protocol: the effect of a sports drink. **Eur J Gastroenterol Hepatol**. v.14, n.10, p.1125-32, 2002.

LEIPER, J.B.; NICHOLAS, C.W.; ALI, A.; WILLIAMS, .;, MAUGHAN RJ. The effect of intermittent high-intensity running on gastric emptying of fluids in man. **Med Sci Sports Exerc**. v.37, n.2, p.240-7, 2005.

LIRA, C. A. B.; VANCINI, R. L.; DA SILVA, A. C.; NOVAILHETAS, V. L. A. Efeitos do exercício físico sobre o trato gastrointestinal. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 14, n.1, jan./fev. 2008.

LAMBERT, G. P. Role of gastrointestinal permeability in exertional heatstroke. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, n. 4, p. 185-190, 2004.

LAMBERT, G. P. Stress-induzido gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. **J. Anim.**, v. 87, p.E101-E108, 2009.

(BOOTH, F. W.; CHAKRAVARTHY, M. V.; SPANGENBURG, E. E. Exercise and gene expression: physiological regulation of the human genome through physical activity. **J Physiol**, v. 543, n. Pt 2, p. 399-411, 2002.

BIANCHINI, F. ; KAAKS, R.; VAINIO, H. Weight control and physical activity in cancer prevention. **Obesity Reviews**. 3:5-8, 2002.

BURNHAM, T. R.; WILCOX, A. Effects of exercise on physiological and psychological variables in cancer survivors. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 12, p. 1863-1867, 2002.

ABALO R.; CABEZOS P.A.; VERA G.; PELÁEZ GARCÍA .; FERNÁNDEZ-PUJOL R.; MARTÍN M.I. Radiographic analysis of gastric dysmotility induced by emetogenic (cisplatin) and non-emetogenic (vincristine) antitumoral drugs in the rat. **Neurogastroenterol Motil** 2009;

AUTHIER, N.; GILLET, J.;P., FIALIP, J.; ESCHALIER, A.; COUDORE, F. An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. **Exp. Neurol.**, 182, 1, 12-20. 2003.

MARD, S. A; AHMADI, I; AHANGARPOUR, A; GHARIB-NASERI, M. K; BADAVIDI, M. Delayed gastric emptying in diabetic rats caused by decreased expression of CY stathioninegammalyase and H₂ S synthesis: in vitro and in vivo studies. **Neurogastroenterolmotil.** V.28, n.11, p.1677-1689. 2016.

OBATTO C. A.; DE MELLO M. A.; SIBUYA, C. Y.; DE AZEVEDO J. R.; DOS SANTOS L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol** 130:,p.21-7, 2001.

DOS SANTOS, J. A. Efeito do treinamento físico de resistência sobre a morfologia de fibras musculares e sobre a expressão de genes para fatores neutróficos no sistema nervoso central em ratos. Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2012.

HORNERBERG T. A.; FARRAR R.P.; Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can Journal Appl Physiol** 2004;29(1):16-31.

BRAY, F. et al. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008 – 2030): a population – based study. **The Lancet Oncology**, v. 13, n. 8,p. 790 – 801, 2012.

CHABNER, B. A. et al Chemotherapy of Neoplastic Diseases. In: BRUNTON, L. L., LAZO, J. S., PARKER, K. L. eds. Goodman & Gilman's. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 11. Ed. Nova York: McGraw – Hill, 2006.

INCA: Instituto Nacional do Câncer Estimativa 2015/2016 Disponível em: <http://WWW.inca.gov.br>. Acesso em 14 Maio, 2017.

PATTABIRAMAN, D. R.; WEINBERG R. A.; “Tackling the Cancer Stem Cells – What Challenges Do They Pose?” **Nature reviews**. Drug discovery 13.7 : 497–512. 2014.

DEVITA Jr. D. T.; Chu, E. **Cancer Research**, v. 68, November, 2008.

VELASCO, R.; BRUNA, J. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: An unresolved issue. **Neurología. Sociedade Espanhola de Neurología**. v. 25. 2010.

CUMMINGS, J.L. Cholinesterase inhibitors: a new class of psychotropic compounds. **American Journal of Psychiatry**. 157: 4-15. 2000.

KRAEMER, W.J.; ADAMS, K. CAFARELLI E. American College of Sports Medicine Position Stand on progression models in resistance training for healthy adults. **Med Science Sports Exerc** 2002;34(3):364---80

RODRIGUES, M. D.; BORIN, S. H.; SILVA, C. A. Relações metabólicas em ratos sobre treinamento anaeróbico em escada. **Revista Brasileira de Ciência do Esporte**. V. 39. 2017