UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

ASSOCIAÇÃO DO METHIMAZOLE E DO ONDANSETRON À QUIMIOTERAPIA COM CISPLATINA EM CÃES SUBMETIDOS A QUATRO DIFERENTES PROTOCOLOS DE FLUIDOTERAPIA

Cláudia Sampaio Fonseca
Médica Veterinária

Jaboticabal – São Paulo - Brasil
2002

RESUMO

ASSOCIAÇÃO DO METHIMAZOLE E DO ONDANSETRON À QUIMIOTERAPIA COM CISPLATINA EM CÃES SUBMETIDOS A QUATRO DIFERENTES PROTOCOLOS DE FLUIDOTERAPIA

A cisplatina é um agente antineoplásico utilizado em oncologia veterinária, sendo indicada no tratamento adjuvante de várias neoplasias, contudo, sua eficácia terapêutica é, muitas vezes, limitada por seu efeito nefrotóxico e emetogênico. Neste estudo, objetivou-se avaliar um novo protocolo quimioterápico, utilizando associação do methimazole e do ondansetron à cisplatina, além de tentar minimizar o tempo de fluidoterapia. Foram utilizados 12 cães, machos, divididos em quatro grupos experimentais, sendo constituídos de três animais por grupo. Os grupos foram divididos de acordo com o tempo de fluidoterapia: G1 (sem fluidoterapia), G2 (uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina), G3 (uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina e uma hora após) e G4 (duas horas de fluidoterapia antes da cisplatina e uma após). Todos os animais receberam cisplatina na dose de 70 mg/m^2, por via intravenosa, diluída em solução fisiológica 0,9%, e administrada por um período de 20 minutos. Os ciclos de quimioterapia foram realizados em intervalos de três semanas totalizando três ciclos. O ondansetron foi administrado na dose de 0,4 mg/kg, por via intravenosa, a cada 8 horas, no dia da quimioterapia e a seguir a cada 12 horas por dois dias, começando 30 minutos antes do início da quimioterapia. O methimazole foi administrado na dose de 40mg/kg, por via oral, 30 minutos antes da cisplatina e quatro horas após. Foram avaliados os parâmetros hematológicos, bioquímicos, urinários e dosagem de tiroxina e triiodotironina a cada sete dias até o término do experimento. Pelos resultados obtidos observou-se que este protocolo é eficaz e seguro quando os animais permanecem por um período de duas a três horas sob fluidoterapia, visto que não apresentaram alterações clínicas laboratoriais

decorrentes do uso da quimioterapia. Porém, os animais que não receberam fluidoterapia e aqueles que ficaram somente uma hora em infusão intravenosa de solução fisiológica apresentaram alterações que inviabilizam o uso deste protocolo. Concluiu-se que a cisplatina pode ser usada com segurança em animais sem doença renal prévia, ao associar o ondansetron e o methimazole a um protocolo de uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina e uma hora após, ou a um protocolo de duas horas de fluidoterapia antes da cisplatina e uma hora após.

Palavras-chave: cirurgia, quimioterapia, cães.

ABSTRACT

ASSOCIATION OF METHIMAZOLE AND ONDANSETRON TO CHEMOTHERAPY WITH CISPLATIN IN DOGS SUBMITTED TO FOUR DIFERENT PROTOCOLS OF SALINE DIURESIS

The cisplatin is an antineoplasic agent used in veterinary oncology, being indicated to the adjuvant treatment of several neoplasms, however, its therapeutic effectiveness is, a lot of times, limited by its nephrotoxic and emetogenic effects. The objective of this study was evaluating a new chemotherapic protocol, using association of methimazole and ondansetron to the cisplatin, besides trying to minimize the time of saline diuresis. Twelve male dogs were divided in four experimental groups, being constituted of three animals by group. The groups were divided according to the time of saline diuresis: G1 (without saline diuresis), G2 (an hour of saline diuresis before the cisplatin), G3 (an hour of saline diuresis before the cisplatin and one hour after) and G4 (two hours of saline diuresis before the cisplatin and one after). All animals received cisplatin in the dose of 70 mg/m^2, for intravenous road, diluted in physiologic solution 0,9%, and administered by a period of 20 minutes. The chemotherapy cycles were accomplished in intervals of three weeks with three cycles. Ondansetron was administered in the dose of 0,4 mg/kg, for intravenous road, at every 8 hours, in the day of the chemotherapy and to proceed every 12 hours for two days, beginning 30 minutes before the beginning of the chemotherapy. Methimazole was administered orally in the dose of 40mg/kg, 30 minutes before the cisplatin and four hours after. The hematological, biochemical, urinary parameters and dosage of tiroxin and triiodotironine were evaluated every seven days until the end of the experiment. It was observed that this protocol is effective and safe when the animals stay for a period of two or three hours under saline diuresis, because they didn't present clinical and laboratory alterations of the use of chemotherapy. Even so, animals that didn't receive saline

diuresis and those that were only one hour in intravenous infusion of physiologic solution presented alterations that make unfeasible the use of this protocol. It was concluded that cisplatin can be used with safety in animals without previous renal disease, when associating ondansetron and methimazole to a protocol of an hour of saline diuresis before the cisplatin and one hour after, or to a protocol of two hours of saline diuresis before the cisplatin and one hour after.

Keywords: surgery, chemotherapy, dogs.

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias são doenças que variam quanto à freqüência, região anatômica, extensão, comportamento biológico, tipo de abordagem cirúrgica, sensibilidade à radiação, aos agentes quimioterápicos e aos hormônios, curso clínico e prognóstico. As variações existentes nos métodos usados para diagnóstico e tratamento do câncer tornam necessária uma abordagem conjunta para todos os problemas relacionados à conduta clínica nas neoplasias (LOVE, 1997).

Os dados de literatura revelam que há fracasso em mais de 50% das tentativas de cura com cirurgias locais ou regionais ou radioterapia. Isto se deve ao desenvolvimento de metástases à distância e, também de micrometástases, mesmo que estas não apareçam no momento do diagnóstico inicial e do tratamento. A identificação do risco de focos de micrometástases à distância, em determinados pacientes, e a conseqüente adoção de tratamento adicional junto ao tratamento primário aumentam as taxas de cura para algumas neoplasias (BOSCH & COLEMAN, 1997).

Os protocolos que visam ao tratamento das neoplasias, em sua maioria, são dependentes da atuação multidisciplinar dos profissionais envolvidos, e sempre são fundamentados em três pontos, quais sejam: cirurgia, radioterapia e quimioterapia, normalmente associadas entre si (ECKHARDT & BORDEN, 1997).

A utilização de medidas terapêuticas eficazes e seguras para o paciente canceroso, que sejam efetivas no tratamento e com mínimos efeitos colaterais são, na atualidade, os principais objetivos do médico veterinário oncologista (ECKHARDT & BORDEN, 1997).

Com este trabalho objetivou-se avaliar um novo protocolo de quimioterapia com a cisplatina em cães, na tentativa de se estabelecer o efeito protetor do methimazole sobre a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, assim como do antagonista de receptores 5-HT3, ondansetron, sobre o controle de episódios eméticos, induzidos pela quimioterapia. Além disto, objetivou-se pesquisar novo

protocolo de fluidoterapia, utilizando a cisplatina, na tentativa de se minimizar a necessidade de enfermagem especializada, talvez permitindo que o animal permaneça o menor tempo possível sob fluidoterapia.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Importância dos agentes antineoplásicos

Várias neoplasias, como leucemias e linfomas, manifestam-se como doenças neoplásicas generalizadas que não podem ser tratadas por cirurgia ou radioterapia. Outras neoplasias sofrem metástases antes de serem diagnosticadas e os pacientes apresentam evidência clínica de disseminação, o que impede a ressecção cirúrgica curativa ou a irradiação dos tumores primários. Porém, as situações mais comuns são aquelas nas quais os tumores se apresentam com características biológicas agressivas e micrometástases em desenvolvimento no momento do diagnóstico. Esses pacientes de alto risco podem se beneficiar com uma terapia sistêmica profilática eficaz (LOVE, 1997).

Atualmente, o tratamento do câncer tem-se tornado mais rotineiro na clínica de pequenos animais. Isto se deve provavelmente a vários fatores, como o aumento da procura por parte dos proprietários de animais portadores de neoplasias, evidências de que a terapia, principalmente a quimioterapia, pode ser efetiva no controle tumoral, resultando em melhora da qualidade de vida e maior tempo de sobrevida, e aumento do número de profissionais preparados para realizar o tratamento do câncer em animais, devido ao acesso a resultados de terapias eficazes (DAGLI, 1999).

A quimioterapia antineoplásica pode ser considerada uma estratégia antiga de tratamento anticanceroso, pois há relatos de que na Grécia antiga tratavam-se tumores através de aplicação direta de substâncias cáusticas, alcalóides, metais e seus sais (DAGLI, 1999). No entanto, os primeiros registros de tratamento quimioterápico efetivo surgiram somente no final do século XIX com a descoberta da solução de Fowler (arsenito de potássio) por Lissauer (1895) e da toxina de Coley (combinação de produtos bacterianos) em 1890 (BONASSA, 2000).

A quimioterapia desenvolveu-se nos anos 40 com o uso terapêutico da mostarda nitrogenada. Seu objetivo era o mesmo da quimioterapia antibacteriana,

o de destruir células cancerosas como ocorre com as bactérias (ECKHARDT & BORDEN, 1997). Ainda nos anos 40 surgiram os primeiros resultados satisfatórios com o uso de hormônios no tratamento de carcinomas de próstata e mama (BONASSA, 2000).

Também na década de 40, Sidney Farber constatou casos de remissão de leucemia linfóide em crianças com o uso da aminopterina, um antagonista do ácido fólico, fármaco classificado atualmente no grupo dos antimetabólitos, ao lado do methotrexate e fluoracil (OGILVIE & MOORE, 1995; BONASSA, 2000). Nos anos 50 foram identificados os primeiros antibióticos com atividade antitumoral (OGILVIE & MOORE, 1995).

Atualmente, as pesquisas continuam no sentido de desenvolver novos agentes, porém a ênfase maior reside na descoberta de substâncias análogas às já conhecidas com efeitos tóxicos menos agressivos (BONASSA, 2000).

Os quimioterápicos podem ser administrados como uma única dose, geralmente na forma de uma injeção em bolus, repetida a cada três a seis semanas ou, como terapia de manutenção, sob a forma de pequenas doses diárias seqüenciais. A abordagem de alta dose baseia-se no pressuposto de que são necessários 21-42 dias para a recuperação da toxicidade na medula óssea – numa base racional para o tratamento cíclico. Alguns quimioterápicos são menos tóxicos e não necessitam de um período longo entre as administrações, porém a administração e dosagem corretas devem basear-se em dados de farmacocinética (OGILVIE & MOORE, 1995).

Estima-se que 20% dos pacientes tratados atualmente com quimioterapia são curados e outros 20% têm um significativo aumento de expectativa de vida. Os 60% restantes obtêm benefícios mínimos ou nulos sob tratamento citostático e sofrem com seus efeitos tóxicos colaterais. Com o uso da quimioterapia, nos últimos anos, houve aumento significativo na taxa de sobrevida em várias neoplasias da infância e em certos tumores sólidos dos adultos (ECKHARDT & BORDEN, 1997).

Na prática médica veterinária, o objetivo mais importante da quimioterapia é

proporcionar o máximo efeito antitumor com mínima toxicidade ao animal. Porém, infelizmente, a dose efetiva é muito próxima à dose tóxica. A indicação mais comum da quimioterapia é para tratamento sistêmico de neoplasias avançadas, sendo também indicada para aumentar a eficiência da terapia primária local da cirurgia ou radiação (OGILVIE & MOORE, 1995).

Muitos proprietários apresentam-se relutantes em autorizar a quimioterapia em seus animais de estimação receosos com os efeitos colaterais. Este receio é resultante do conhecimento da toxicidade da quimioterapia experimentada pelos pacientes portadores de neoplasias da espécie humana. Segundo BERG (1996), estes proprietários precisam ser informados de que os objetivos de tratamento são diferentes nos dois casos. Na medicina, o objetivo é geralmente a cura do paciente, e tanto o médico quanto o próprio paciente estão dispostos a aceitar altos níveis de toxicidade para obter tal objetivo. Na medicina veterinária, o objetivo mais comum é prolongar a vida, manter qualidade de vida do paciente, enquanto minimiza os efeitos tóxicos colaterais. Por esta razão, a intensidade e a duração da quimioterapia são menores na prática oncológica veterinária em comparação à medicina (BERG, 1996).

De acordo com JAIN (1993), os limites fisiológicos para o eritrograma em cães estão representados pelos valores que se seguem: a contagem global de eritrócitos situa-se entre 5,4 e 8,5 x 10^6/μL, valor de hemoglobina entre 12 e 18 g/dL, hematócrito 37 e 55%, volume corpuscular médio (VCM) em torno de 60 e 77 fL, e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) entre 32 e 36%. Em relação aos valores normais da série branca, o número total de leucócitos circulantes situa-se entre 6,0 e 17,0 x 10^3/μL, sendo as variações leucocitárias distribuídas da seguinte maneira: neutrófilos segmentados 60 a 75% e 3,0 a 11,5 x 10^3/μL, neutrófilos bastonetes 0 a 3% e até 300/μL, eosinófilos 2 a 10% e 100 a 1250/μL, linfócitos 12 a 30% e 1500 a 5000/μL, monócitos 3 0 9% e até 2000/μL e basófilos raros. A plaquetometria em cães adultos varia entre 200000 a 500000/μL de sangue.

Quanto aos valores de bioquímica sérica de cães adultos, SODIKOFF

(1995) estabeleceu os seguintes valores para alanina aminotransferase 0-40 UI/L, albumina 2,5-3,5 g/dL, fosfatase alcalina 20-156 UI/L, creatinina 0,5-1,5 mg/dL, uréia 21,4-59 mg/dL, bilirrubina total até 0,6 mg/dL, bilirrubina direta até 0,14 mg/dL e proteínas plasmáticas 6,1 a 7,8 g/dL. Os valores referentes à concentração sérica de cálcio situam-se entre 8-12 mg/dL, fósforo 2,2-5,6 mg/dL, potássio 3,6-5,8 mmol/l e magnésio entre 1,8-2,4 mg/dL. Os níveis plasmáticos de glicose para cães situam-se entre 70 a 110 mg/dL de acordo com SODIKOFF (1995).

Os níveis de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) para cães estão bem estabelecidos, relativamente ao T3 essas concentrações ficam entre 80 e 200 ng/dL e as de T4 entre 1,3 e 4,0 μg/dL (SODIKOFF, 1995).

As características físico químicas e sedimentoscópicas da urina de cães sadios, segundo CHEW & DIBARTOLA (1989) estão sumarizadas no quadro a seguir:

EXAME FÍSICO	
- Cor:	amarelo claro ao âmbar
- Odor:	característico
- Aspecto:	límpido
- Densidade:	1,015 a 1,045
- pH:	5,5 a 7,5
EXAME QUÍMICO	
- Nitrito:	ausente
- Proteínas:	ausente a +1
- Glicose:	ausente
- Corpos cetônicos:	ausentes
- Urobilinogênio:	ausente
- Bilirrubina:	ausente a +1
- Sangue oculto:	ausente
SEDIMENTOSCOPIA	
- Hemácias:	ausentes
- Leucócitos:	ausente
- Células epiteliais:	
- transição:	0 a 2/campo (400x)
- escamosas:	0 a 1/campo (400x)
- caudadas:	ausentes
- Cilindros:	
- hialinos:	0 a 2/campo (400x)
- granulosos:	0 a 1/campo (400x)
- celulares, céreos:	ausentes

2.2. Toxicidade decorrente da quimioterapia

Como os antineoplásicos estão sendo cada vez mais usados na prática médica veterinária, o potencial de toxicidade destes agentes também tem aumentado. Quando se considera o efeito tóxico destes fármacos, é importante considerar que eles foram especificamente designados para destruir as células neoplásicas, porém estes quimioterápicos também destroem as células normais do hospedeiro. Como resultado, a toxicidade não ocorre somente em casos de super dosagem, mas pode ocorrer quando estes agentes são usados terapeuticamente (O'KEEFE & HARRIS, 1990).

A quimioterapia consiste no uso de substâncias químicas isoladas ou em combinação, com o objetivo de tratar as neoplasias malignas. São fármacos que atuam nas células interferindo em seu processo de crescimento e divisão. A maioria dos agentes antineoplásicos não possui especificidade, ou seja, não destrói seletiva e exclusivamente as células tumorais. Em geral, são tóxicos aos tecidos de rápida proliferação caracterizados por alta atividade mitótica e ciclos celulares curtos (DAGLI, 1999; BONASSA, 2000).

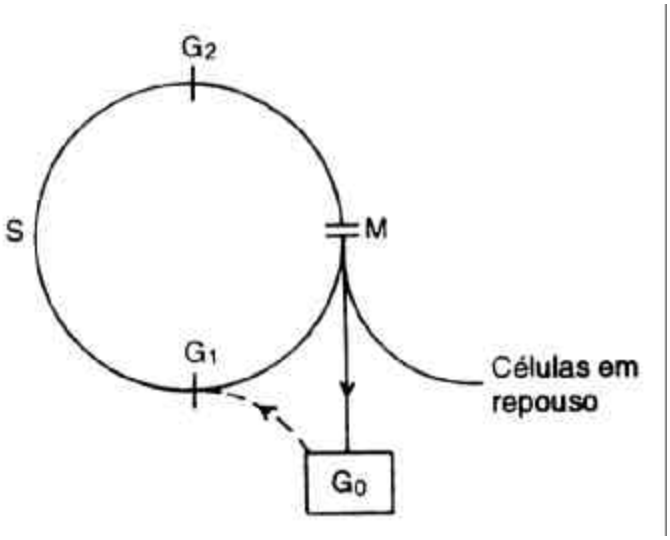
O ciclo celular está apresentado no Esquema 01. Células em fase G0 ou fase de descanso representam a fração não proliferativa do componente celular, sendo, portanto pouco vulneráveis à ação dos antineoplásicos. Nesta fase, as células são as grandes responsáveis pelas recidivas e metástases.

A fase G1 representa o início do processo de divisão celular, nela ocorre síntese do RNA e das proteínas necessárias à formação do DNA.

Na fase seguinte, a fase S, ocorre síntese de DNA, ou seja, a duplicação do material genético. Em seguida a célula entra na fase G2, também chamada de fase pré-mitótica, em que ocorre a síntese de RNA e das proteínas necessárias ao processo de divisão; é uma fase preparatória para a divisão celular.

Finalmente a célula conclui seu processo de duplicação na fase M, ou fase de mitose. Em 30 a 60 segundos ocorre a separação dos cromossomos e a formação de duas células filhas idênticas. Após a mitose, as células filhas podem

seguir uma das três vias: continuam pelo ciclo celular na fase G1; entram na fase G0, a partir da qual ela pode reentrar no ciclo; ou elas podem deixar o ciclo celular, sofrendo diferenciação e maturação (O'KEEFE & HARRIS, 1990; BONASSA, 2000).



Esquema 01. Representação do ciclo celular. (Adaptação de BONASSA, 2000)

Todas as células normais ou neoplásicas passam pelas mesmas etapas até chegar à divisão celular. A diferença consiste no fato de que nos tecidos normais a produção celular ocorre de forma a preencher as necessidades orgânicas, ou seja, há um equilíbrio entre células que nascem e células que morrem. No entanto, as neoplásicas não obedecem a esse comando e proliferam excessivamente. Devido a essa falha no mecanismo de controle da divisão, a porcentagem de células em processo de divisão celular é muito maior nos tecidos neoplásicos do que nos normais, dos quais se originam. Neste processo descontrolado de proliferação celular pode haver a perda da capacidade de diferenciação, ou seja, produção de células com características morfológicas e biológicas totalmente diferentes do tecido normal de origem (BONASSA, 2000).

Segundo DAGLI (1999), para a quimioterapia, as células que não estão em

divisão têm pouca importância, ao passo que a fração de crescimento das células tumorais em muito influencia sua susceptibilidade à quimioterapia. Como a maior parte dos agentes antineoplásicos atua nas células que estão sintetizando ativamente o DNA, fica claro que um tumor que contenha 5% de todas as células em replicação crescerá mais lentamente, mas será refratário ao tratamento. Paradoxalmente, tumores agressivos que contêm grande proporção de células em divisão regridem rapidamente com a quimioterapia, podendo inclusive ser eliminados.

A maioria dos tecidos neoplásicos possui mais células com elevada fração de crescimento, enquanto os tecidos normais possuem mais células deixando o ciclo na forma de células maturas funcionais. É esta diferença no crescimento que permite aos quimioterápicos destruir as células tumorais enquanto protege o tecido normal (DAGLI, 1999).

Os quimioterápicos, de maneira geral, interferem na síntese de DNA, RNA, ou na replicação celular, levando à cessação da divisão ou à morte celular. Infelizmente, estes efeitos não se restringem às células neoplásicas, e a maior parte dos agentes antineoplásicos também atua sobre as células normais, principalmente aquelas que se dividem constantemente, denominadas lábeis, tais como as da medula óssea, epitélios, gônadas, tecido linfóide e folículos pilosos (O'KEEFE & HARRIS, 1990; DAGLI, 1999).

Os efeitos colaterais podem constituir num dos principais fatores de limitação ao uso da quimioterapia. Náuseas, vômitos, anorexia, enterocolite e diarréia são algumas das alterações gastrointestinais provocadas por lesões epiteliais. Alopecia ocorre pela interferência na divisão das células do folículo piloso (OGILVIE & MOORE, 1995).

O vômito é geralmente uma reação aguda ao efeito dos quimioterápicos, ocorrendo dentro de poucas horas após a administração e terminando em 24 horas. Alguns pacientes, entretanto, continuarão a experimentar anorexia e vômito por vários dias após a quimioterapia. Isto pode resultar em desidratação, desequilíbrio eletrolítico e debilitação adicional ao paciente. Neste sentido, quando

forem utilizados antineoplásicos com elevado potencial emetogênico, é prudente instituir terapia antiemética prévia à quimioterapia (O'KEEFE & HARRIS, 1990).

As lesões induzidas pela quimioterapia podem causar descamação e inflamação secundária do epitélio oral, mucosa gástrica e criptas do epitélio intestinal. Apesar disto, a maioria dos cães submetidos à quimioterapia não apresentam sinais clínicos de toxicidade gastrointestinal. Quando os sinais clínicos ocorrem, eles geralmente aparecem três a sete dias após a administração do quimioterápico e incluem estomatite, vômito e diarréia mucóide ou hemorrágica (SCHAEPPI et al., 1973; O'KEEFE & HARRIS, 1990).

Mielossupressão é o efeito adverso mais comum associado à quimioterapia. Como as células precursoras de leucócitos, plaquetas e hemácias possuem elevada fração de crescimento, elas podem ser lesadas ou destruídas pelos antineoplásicos. O efeito final na contagem de células sangüíneas periféricas pode ser previsto com base na meia vida circulante de vários tipos celulares (O'KEEFE & HARRIS, 1990). Estas meias vidas, no cão, são aproximadamente 120 dias para hemácias, cinco a sete dias para plaquetas e quatro a oito horas para os neutrófilos (SCHALM et al., 1975). Isto explica porque a neutropenia geralmente ocorre primeiro, seguido por trombocitopenia; a anemia não é achado comum, mas quando ocorre seu aparecimento é tardio, ou seja, três a quatro meses após início da quimioterapia (BONASSA, 2000). Na maioria dos casos, as células mãe, pluripotenciais, estão protegidas pelos efeitos da quimioterapia porque estão na fase de descanso G0. O recrutamento destas células para o ciclo celular permite à medula óssea se recuperar após a remoção do agente antineoplásico (O'KEEFE & HARRIS, 1990).

Fatores individuais podem influenciar o grau de mielossupressão. Animais senis, aqueles que já foram submetidos à quimioterapia prévia, bem como os com envolvimento neoplásico na medula óssea podem desenvolver citopenias mais graves em resposta à quimioterapia, porque possuem depleção da reserva da medula óssea. Disfunção orgânica levando ao atraso no metabolismo ou excreção do fármaco pode aumentar substancialmente a toxicidade do agente

antineoplásico (HOAGLAND, 1984).

Neutropenia é a citopenia dose limitante mais comum. O ponto mais baixo da contagem neutrofílica (nadir) é variável com o quimioterápico utilizado e a via de administração; mas geralmente ocorre cinco a dez dias após a administração do quimioterápico (GIGER, 1984). A recuperação da medula óssea tem início dentro de 36-72 horas após o nadir e é completa após 21 dias. A complicação mais comum em pacientes neutropênicos é a septicemia em que as bactérias penetram na circulação pelo trato gastrointestinal. A descamação da mucosa intestinal pela quimioterapia rompe a barreira de proteção normal da mucosa, permitindo que as bactérias entéricas alcancem a circulação. A avaliação do paciente deve ser feita semanalmente ou a cada duas semanas, ocasião em que deve ser procedidos o eritrograma e trombograma. A quimioterapia deve ser descontinuada temporariamente se a contagem de neutrófilos for inferior a 2500 céls./μL ou se a contagem de plaquetas for menor que 50000 céls./μL (O'KEEFE & HARRIS, 1990).

A incidência de trombocitopenia induzida pela quimioterapia é similar a neutropenia, porém o nadir ocorre após um a dois dias. A contagem de plaquetas geralmente permanece acima de 50.000 céls./μL assim geralmente não se observa hemorragia espontânea. Entretanto, trombocitopenia associada a petéquias, equimose e hemorragia de mucosas podem ser problemas consideráveis em pacientes com deficiências no número de células medulares ou em caso de overdose (GIGER, 1984; O'KEEFE & HARRIS, 1990).

Também ocorrem efeitos de importância clínica tanto sobre o sistema endócrino quanto sobre os ovários e testículos sobre a forma de infertilidade (O'KEEFE & HARRIS, 1990; OGILVIE & MOORE, 1995; DAGLI, 1999).

2.3. O uso da cisplatina em medicina veterinária

A cisplatina ou composto cisplatina-diaminodicloroplatinum (CDDP) é um agente citotóxico inorgânico que contém o metal pesado platina; é efetivo para o tratamento adjuvante de osteossarcoma, carcinoma de células escamosas, tumores da bexiga, dos testículos, esôfago, pulmão, melanomas e mesoteliomas (CARNEIRO et al., 1992; OGILVIE, 1996; HAHN et al., 1997; SOBRAL et al., 2001).

Assemelha-se aos agentes alquilantes em seu mecanismo de ação. Inibe mais a síntese de DNA do que a síntese de RNA e proteínas, e é um quimioterápico ciclo celular não específico (COPPOC, 1992; BONASSA, 2000). De acordo com CARNEIRO et al. (1992), a cisplatina atua predominantemente na fase S, em que ocorre a síntese de DNA nuclear e os efeitos nas ligações cruzadas são mais evidentes. Entretanto, esta especificidade parece ser variável entre os distintos tipos celulares.

Quimicamente, a cisplatina é um composto inorgânico formado por um átomo central de platina circundado por átomos de amônia e cloro em posição *cis* no plano horizontal (ROZENCWEIG et al., 1977).

Embora a identificação inicial da cisplatina tenha sido verificada em 1965, foi apenas no último decênio que a mesma passou a ser utilizada e analisada amplamente em múltiplos protocolos clínicos e experimentais para diversas neoplasias, quer como agente citostático isolado ou em combinação (CARNEIRO et al., 1992).

A descoberta deste novo agente quimioterápico utilizado e divulgado na prática clínico-oncológica ocorreu quando ROSENBERG e seu grupo de pesquisadores nos Estados Unidos da América (1965) fizeram passar uma corrente elétrica entre eletrodos de platina e observaram a inibição do crescimento de *Escherichia coli.* Posteriormente, comprovaram a formação de compostos inorgânicos contendo platina, na presença de íons cloro e amônia, com efeitos evidentes na inibição da replicação bacteriana, além da atividade antiblástica em

tumores experimentais (CARNEIRO et al., 1992).

Em 1969, ROSENBERG et al. comprovaram que certos compostos de platina tinham capacidade de causar retardo no crescimento de tumores experimentalmente induzidos em ratos e também aumento marcante no tempo de sobrevida de ratos portadores de leucemia. Neste período, alguns ensaios com roedores sugeriam certa toxicidade do quimioterápico, sendo que altas doses do composto de platina eram capazes de lesionar as criptas das células intestinais, tornando a mucosa deste órgão com aparência gelatinosa. Não se conhecia, até então, o mecanismo exato de ação contra as células tumorais, embora dados iniciais indicassem distorções morfológicas dos cromossomos.

Em 1985, os oncologistas veterinários começaram a avaliar a cisplatina no tratamento de neoplasias em cães, porém tornavam-se necessárias maiores informações sobre o quimioterápico. Sua utilização na prática médica veterinária é relativamente recente, e tem sido indicada na prevenção de metástases de osteossarcoma após amputação, no tratamento de mesoteliomas pleurais ou peritoniais e nos carcinomas ovarianos com metástases abdominais (DELISLE et al., 1996).

A cisplatina é contra-indicada na espécie felina, pois pode causar edema pulmonar fulminante (DELISLE et al., 1996).

Após infusão intravenosa de cisplatina, ocorre diminuição bifásica da concentração plasmática. Os respectivos períodos de meia vida nas fases inicial e secundária são 25 a 50 minutos e 58 a 73 horas em humanos e aproximadamente 22 minutos e 120 horas no cão (ROZENCWEIG et al., 1977; PAGE et al., 1985). A primeira fase representa a distribuição da platina livre nos tecidos (pele, fígado, rim, osso) assim como rápida ligação às proteínas e excreção. Noventa por cento da platina sérica está fortemente ligada às proteínas séricas em três horas, possuindo fraca atividade biológica. Postula-se que a platina tecidual sirva como reservatório que mantém a concentração circulante de platina, sendo responsável pela prolongada fase de eliminação (PAGE et al., 1985).

Em todas as espécies, a principal via de eliminação dos compostos da cisplatina é a urinária. Todavia, a platina também pode ser eliminada, numa menor quantidade, através da excreção biliar. A platina não ligada é filtrada livremente através dos glomérulos, sendo que o mecanismo tubular renal de filtração do fármaco não é completamente conhecido. Em cães, 80 a 90% da dose administrada é detectada na urina como platina livre dentro de 48 horas (OGILVIE et al., 1991), sendo que a maior parte do fármaco eliminado ocorre nas primeiras quatro horas. Alguns relatos indicam que dois a 13% da platina pode ser encontrada nas fezes em seis dias, embora o metabolismo entero-hepático da mesma não seja bem definido (PAGE et al., 1985).

A entrada do fármaco na célula se dá por simples difusão sem necessidade de um sistema específico de transporte. Dentro da célula, os íons cloreto dissociam-se e são substituídos por moléculas de água, resultando numa forma aquosa, que se liga de forma covalente à hélice do DNA e inibe sua replicação (OGILVIE et al., 1991). Segundo CARNEIRO et al. (1992), a formação de espécies ativadas deste agente citotóxico (cisplatina) pode ser resultante da hidrólise do cloro.

Em soluções salinas, ricas em íons cloreto (plasma, solução salina a 0,9% ou hipertônica a 3,0%), a cisplatina torna-se inativa e estável. Uma vez no citoplasma da célula, um meio pobre em íon cloreto ocorre dissociação da cisplatina em seus diferentes compostos (DELISLE et al., 1996).

Os principais efeitos tóxicos causados pela cisplatina são nefrotoxicidade, náusea, vômito, ototoxicidade com perda de audição, alopecia, reações semelhantes à anafilaxia e neurotoxicidade, sendo este de ocorrência rara. A mielossupressão é discreta, porém trombocitopenia e granulocitopenia podem ser observadas do sétimo ao nono dias e do 17° ao 19°, respectivamente, após sua administração (PAGE et al., 1985; COPPOC, 1992; OGILVIE, 1996). Cães de pequeno porte são mais susceptíveis à toxicidade da cisplatina que aqueles de grande porte (OGILVIE, 1996).

A cisplatina é o antineoplásico mais nefrotóxico usado no tratamento de neoplasias em cães. Cerca de 80 a 90% do fármaco é eliminado na urina em 48 horas, sendo livremente filtrado pelo glomérulo devido ao seu baixo peso molecular (SAFIRSTEIN et al., 1984; KISSEBERTH & MacEWEN, 1996). A nefrotoxicidade está relacionada à dose, e constitui-se no maior efeito colateral do quimioterápico resultando em elevação transitória na concentração de uréia e creatinina, e subseqüente insuficiência renal, sendo cumulativa e, aparentemente irreversível, afetando principalmente os túbulos proximais (FJELDBORG et al., 1986; LARUE et al., 1989; CAMPOS et al., 1992; OGILVIE et al., 1993). A evidência histopatológica inclui degeneração tubular, perda da borda em escova e necrose das células epiteliais tubulares (COPPOC, 1992).

Estudos em animais de laboratórios sugerem que a evidência clínica de nefrotoxicidade se desenvolve poucos dias após a administração da cisplatina. Assim como na necrose tubular induzida pelo mercúrio, há o aparecimento precoce de cristais, proteinúria e aumento da descamação de células tubulares renais observados na urinálise. O pico de azotemia se dá nos dias oito e 12 após a quimioterapia (MADIAS & HARRINGTON, 1978).

Uma característica dos complexos inorgânicos de platina usados clinicamente demonstra que suas atividades antitumorais e nefrotóxicas estão ligadas às suas configurações moleculares, especificamente a seu isomerismo geométrico; somente os complexos de cis-platina possuem propriedades antitumorais e nefrotóxicas, já os compostos correspondentes à trans-platina são isentos de tais características. A maioria das informações disponíveis sobre a nefrotoxicidade da platina é derivada de estudos com cis-diclorodiaminoplatinum (II), o mais potente e mais amplamente testado dos complexos de platina com atividade antitumoral (MADIAS & HARRINGTON, 1978).

Metais pesados são conhecidos por causar nefrotoxicidade em humanos há vários anos. As síndromes clínicas incluem insuficiência renal aguda com lesão tubular, nefrite intersticial crônica e síndrome nefrótica. A introdução dos compostos de platina como agentes antitumorais tem revivido o problema de

nefrotoxicidade dos metais pesados com alteração clínica significativa. A nefrotoxicidade é esperada já que o tecido renal é o maior sítio de concentração da cisplatina e os rins constituem a principal via de eliminação do fármaco (MADIAS & HARRINGTON, 1978).

Segundo VAIL et al. (1993), o mecanismo responsável pela nefrotoxicidade da cisplatina pode envolver interferência direta com os processos de transporte tubular ou mitocondrial, modificação covalente dos constituintes celulares ou, até mesmo, a geração de radicais livres.

PAGE et al. (1985) postularam algumas teorias sobre o mecanismo de nefrotoxicidade da cisplatina. A secreção tubular da cisplatina envolve acúmulo da platina nas células epiteliais tubulares com transporte passivo para o lúmen. Este acúmulo intracelular induz a disfunção tubular por não ligação ao processo de oxidação fosforilativa, promovendo depleção de energia e necrose. Outro mecanismo proposto para nefrotoxicose é semelhante àquele visto na insuficiência renal aguda causada por outros metais pesados, como o mercúrio, que ativam o sistema renina-angiotensina, resultando em diminuição na taxa de filtração glomerular e fluxo sangüíneo renal, induzindo ao aparecimento de necrose tubular.

MADIAS & HARRINGTON (1978) evidenciaram profundo decréscimo na taxa de filtração glomerular e no fluxo sangüíneo renal, especialmente no córtex e na camada externa da porção medular, provavelmente mediado pela ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, essencial para o desenvolvimento da insuficiência renal aguda.

De acordo com CAMPOS et al. (1992), a incapacidade de concentrar urina produzida pela cisplatina parece ser devido a efeitos tubulares da mesma, principalmente no túbulo proximal e porção espessa da alça de Henle, e não a uma inibição dessa substância sobre a ação do hormônio antidiurético no túbulo coletor.

Os resultados obtidos por DOBYAN et al. (1980) demonstraram que a cisplatina tem efeito nefrotóxico sítio-específico no túbulo proximal do rato. Segundo estes autores, três segmentos S1, S2 e S3 são descritos no túbulo

proximal. Os segmentos S1 e S2 situam-se no córtex renal, enquanto S3 (*pars recta)* encontra-se na porção mais externa da região medular. Neste estudo, S3 foi a região do néfron mais acometida pela quimioterapia com cisplatina. As alterações patológicas foram mais evidentes nos três primeiros dias após administração da cisplatina e consistiu em perda da borda em escova, edema celular, condensação nuclear e áreas de necrose tubular.

Uma possível explicação para o envolvimento da região S3 do túbulo proximal, segundo DOBYAN et al. (1980), é que a cisplatina se acumula neste segmento, preferencialmente. O túbulo proximal é conhecido como o sítio de secreção de ácidos orgânicos. Se a cisplatina é secretada ativamente de maneira semelhante a certos compostos orgânicos mercuriais na *pars recta,* isto pode levar ao acúmulo seletivo de cisplatina no segmento S3 e a um efeito tóxico direto nas células epiteliais que delimitam este segmento do túbulo proximal.

Outra hipótese sobre o envolvimento de S3 é que a cisplatina exerce seu efeito indiretamente por alterações na hemodinâmica renal. Sabe-se que a *pars recta* do túbulo proximal é a região do néfron mais susceptível à lesão isquêmica. Como a cisplatina altera o fluxo sangüíneo renal, como o fazem outros metais pesados, a porção mais externa da medula será mais sensível a estas alterações, devido à vascularização relativamente pobre (DOBYAN et al., 1980).

A lesão renal geralmente não é problema em cães clinicamente saudáveis se for mantida hidratação adequada com solução salina por seis a 24 horas (LARUE et al., 1989; OGILVIE et al., 1993). Segundo MADIAS & HARRINGTON (1978), HARDIE et al. (1991) e CAMPOS et al. (1992), algumas medidas podem ser úteis para minimizar a nefrotoxicidade da cisplatina, incluindo uso de doses menores do fármaco, administração intravenosa de fluidos antes e após a quimioterapia, infusão de cisplatina por mais de seis horas, administração de diuréticos osmóticos, assim como os compostos tióis que inativam a platina biologicamente ativa, podendo melhorar ou minimizar a nefrotoxicidade e muitas vezes preveni-la.

OGILVIE et al. (1992) realizaram um estudo, em cães, para determinar os efeitos tóxicos da cisplatina quando administrada imediatamente após uma hora de diurese salina e concluíram que este protocolo é seguro naqueles animais sem doença renal pré-existente ou sem qualquer outra desordem que comprometa a função renal. Para esses animais deve-se fazer a opção por outro protocolo de diurese mais seguro.

A diurese induzida com manitol (com ou sem furosemida), associada à pré-hidratação com solução salina, demonstraram melhora dos cães com azotemia tratados com doses nefrotóxicas da cisplatina (ROZENCWEIG et al., 1977; FORRESTER et al., 1993). Em todos os protocolos de quimioterapia com a cisplatina indica-se a diurese com o objetivo de evitar possíveis lesões renais aos pacientes (OGILVIE et al., 1993).

Vários estudos são realizados com o intuito de reduzir o grau de nefrotoxicidade em pacientes tratados com cisplatina, incluindo dose única, dose máxima total e velocidade de administração do quimioterápico. Os protocolos com hidratação prévia com solução salina e diuréticos podem variar em duração de 15 minutos a cinco dias. O intervalo de doses entre 60 e 120 mg/m^{2}de área corpórea está relacionado a respostas mínimas de nefrotoxicidade aguda (PAGE et al., 1985).

HARDIE et al. (1991) administraram 90mg/m^2 de cisplatina, a cães, em bolus intravenoso lento resultando em insuficiência renal aguda poliúrica moderada, com aumento da excreção renal de magnésio e fósforo. Segundo os supracitados autores, a toxicidade renal da cisplatina é atribuída à necrose tubular aguda após aumento da concentração de platina no segmento S3 do túbulo proximal.

Um protocolo usando a cisplatina na dose de 2,5mg/kg em cães, sem diurese, foi letal, causando enterocolite grave e insuficiência renal em quatro a oito dias. Mielossupressão também ocorreu em alguns animais. Porém, quando se utilizou diurese, uma dose de 3mg/kg foi bem tolerada pelos pacientes (SCHAEPPI et al., 1973).

Em cães, a uréia nitrogenada sangüínea pode estar elevada do sétimo ao nono dia, podendo persistir por 14 a 18 dias (PAGE et al., 1985), e a hipomagnesemia (devido à perda renal de magnésio) pode ser observada do 17° ao 19°dias após a injeção, que pode persistir por vários meses após o tratamento (FJELDBORG et al., 1986). OGILVIE et al. (1992) não observaram alterações nos níveis séricos de uréia, creatinina, cálcio e magnésio, em cães, que receberam hidratação com solução salina uma hora antes da quimioterapia com cisplatina. A hidratação ou a diurese reduz esta toxicidade e permite a administração de doses maiores (COPPOC, 1992; OGILVIE, 1996). Segundo FORRESTER et al. (1993) a hipersalinização (indução da diurese por infusão com solução hipertônica de cloreto de sódio) é promissora para redução da nefrotoxicidade.

Em estudos em ratos, foi demonstrado que a perda renal de magnésio pode ser atribuída a um defeito no transporte de tal eletrólito nos túbulos distais e coletores. Apesar de o mecanismo determinante do aumento da excreção de íons fosfato ainda não ter sido determinado, embora o maior sítio de reabsorção do fosfato seja o túbulo proximal, é bem provável que este seja o local do “defeito” (MAVICHALE et al., 1985).

Estudos em ratos e em seres humanos têm demonstrado que a administração da cisplatina diluída em solução salina hipertônica está associada à diminuição da ocorrência e gravidade da nefrotoxicidade (BORCH & MARKMAN, 1989). Seres humanos toleram altas doses da cisplatina (200mg/m^2) sem o desenvolvimento de alterações evidentes na função renal, quando o fármaco é preparado em solução salina 3% (OZOLS, 1984). Em ratos, a administração da cisplatina preparada em solução salina 4,5% resultou em mortalidade de 0%, enquanto que a mesma dose administrada em solução salina 0,9% estava associada à mortalidade de 66 a 100% (LITTERST, 1981).

LITTERST (1981) administrou dose única de cisplatina na dose de 70mg/m^2, a cães sadios, utilizando diluição em solução salina 3% e observou tendência na queda da taxa de filtração glomerular e aumento na concentração sérica de uréia e creatinina, quando utilizou este protocolo. Como o efeito

nefrotóxico da cisplatina pode ser cumulativo, este protocolo pode não proteger contra a nefrotoxicidade naqueles pacientes que precisam receber múltiplas doses do antineoplásico. Apesar deste método de tratamento ser mais prático e conveniente que outros protocolos usados, ele não pode ser recomendado a pacientes com doença renal pré-existente ou aqueles que necessitarão de várias doses de cisplatina.

A cisplatina num meio com alta concentração de cloreto não apresenta toxicidade e é capaz de atravessar a membrana celular, justificando a importância da diurese com solução salina. Uma vez dentro da célula, os grupos cloretos da cisplatina são trocados por radicais hidroxila ou água, criando um composto citotóxico, carregado positivamente, que reage com o DNA celular. Quando a hidroxilação ocorre no meio extracelular, o potencial de nefrotoxicidade aumenta. Assim, diurese com solução salina torna-se necessária para assegurar hidratação adequada e manter a cisplatina numa estrutura neutra que irá limitar a nefrotoxicidade (OGILVIE et al., 1991; OGILVIE et al., 1993).

Apesar de existirem vários protocolos de diurese salina, o esquema de quatro horas de hidratação ainda é aquele relativamente mais seguro. Em tal protocolo, a solução salina é administrada, ao cão, por via intravenosa (IV) a 25ml/kg/hora por três horas. Cisplatina é administrada na dosagem máxima de 70mg/m^2 IV por aproximadamente 20 minutos usando esquema de infusão intravenosa lenta, seguido por administração de salina a 25ml/kg/hora por mais uma hora. Este protocolo deve ser repetido a cada três semanas (OGILVIE et al., 1993). A função renal deve ser avaliada com cuidado. As náuseas e vômitos são graves, e podem impor a suspensão do tratamento (COPPOC, 1992).

A mielossupressão decorrente da quimioterapia com cisplatina é considerada moderada quando comparada a outros agentes antineoplásicos. Sua ação mielotóxica manifesta-se de forma transitória com depressão de plaquetas e leucócitos, respectivamente, entre nove a 11 dias e 17 a 18 dias (ROZENCWEIG et al., 1977).

Para evitar problemas maiores é importante respeitar a posologia (60 a 70 mg/m^2), reavaliar o peso do animal antes de cada aplicação do quimioterápico, manter constantes os intervalos de administração e, no caso de hipoplasia medular (leucócitos < 4000/mm^3, granulócitos < 2500/mm^3, plaquetas < 100000/mm^3), suspender o tratamento (DELISLE et al., 1996).

A toxicidade gastrointestinal é freqüente e muitas vezes náuseas, anorexia e emese tornam-se fatores limitantes da quimioterapia. Nos animais, náuseas podem ser expressas como nervosismo, agitação e por vezes agressividade; os vômitos usualmente iniciam-se dentro de uma a 24 horas após a quimioterapia e são freqüentemente acompanhados por anorexia. O mecanismo parece ser estimulação do SNC e também efeito direto sobre o trato gastrointestinal. Sendo assim, vários antieméticos são utilizados no controle do vômito, embora a náusea possa persistir por vários dias. Raramente ocorrem diarréias sanguinolentas (DELISLE et al., 1996).

A cisplatina apresenta elevado potencial emético no cão, especialmente durante as primeiras 24 horas após administração. Butorfanol (0,4 mg/kg, IM) e metoclopramida (0,2 a 0,5 mg/kg, IV) são fármacos comumente utilizados na tentativa de controlar a emese induzida pela cisplatina. Estudos preliminares com antagonistas de receptores de serotonina (5-HT), ondansetron (0,1 mg/kg, IV) sugerem que este pode ser um agente útil no controle da emese aguda induzida pela cisplatina no cão (KISSEBERTH & MacEWEN, 1996).

O papel da 5-HT na emese aguda induzida pela cisplatina já foi documentado em cães por KISSERBETH & MacEWEN (1996). Em estudo realizado por TANIHATA et al. (2000) em pombos, em que utilizaram reserpina, inibidor da síntese de 5-HT, no controle da emese induzida pela cisplatina, observaram queda nos níveis de 5-HT no cérebro e intestino, além da abolição da emese induzida durante 48 horas de observação.

Segundo TANIHATA et al. (2000), a emese aguda induzida pela cisplatina está associada aos sistemas monoaminérgicos sensíveis a reserpina, incluindo 5-

HT, enquanto a emese em longo prazo está relacionada ao sistema monoaminérgico, excluindo o sistema serotoninérgico.

Ototoxicidade é um efeito dose dependente da cisplatina e bem documentado na terapia antineoplásica em humanos, sendo que pode permanecer como conseqüência permanente (PAGE et al., 1985).

Neuropatia periférica, às vezes irreversível, pode ser observada no homem recebendo quimioterapia com cisplatina, e se caracteriza pela perda de sensibilidade das extremidades dos dedos. Raros casos de neuropatia periférica e crises epiléticas foram descritos em cães (DELISLE et al., 1996).

Foram relatados poucos casos de reação anafilática em humanos tratados com cisplatina. Experimentalmente o fármaco é capaz de causar atrofia testicular, prostática e de glândulas salivares (ROZENCWEIG et al., 1977).

2.4. Ondansetron na prevenção da emese em pacientes portadores de neoplasias

Apesar do progresso significativo no controle de náuseas e vômitos induzidos pela quimioterapia durante os últimos anos, estes ainda são considerados problemas graves aos pacientes portadores de neoplasias (RICHARDSON et al., 1988). Isto pode prolongar o período de enfermagem e hospitalização, além de diminuir a qualidade de vida dos mesmos (KÖSEOGLU et al., 1998).

Por muitos anos a zona quimiorreceptora localizada na área postrema do assoalho do quarto ventrículo, no cérebro, foi considerada o sítio de iniciação de emese. Este conceito baseou-se em observações de que a ablação ou lesões na área postrema abolia a emese induzida por uma variedade de estímulos (BONASSA, 2000). Resultados obtidos por LINDLEY & BLOWER (2000) a partir de vagotomia, ativação neural e irradiação suportam a presença de sítios periféricos adicionais para iniciação da emese.

O papel da serotonina (5-HT) é de considerável interesse no processo emético, sendo identificado três receptores de 5-HT, sendo que o tipo 3 (5-HT3) apresenta papel primordial no processo de emese. Receptores 5-HT3 são abundantes nos neurônios vagais aferentes e outros neurônios no trato gastrointestinal, tendo também sido identificados na área postrema, no núcleo trato solitário e nas terminações vagais aferentes pré-sinápticas na medula (GRUNBERG & HESKETH, 1993; WOOD, 1993; LICHTER, 1996).

A liberação de 5-HT das células enterocromafins do intestino delgado é de considerável importância na fisiopatologia da náusea e vômito, mas não pode explicar todos os tipos de emese. Somente 50-60% dos pacientes que recebem quimioterapia altamente emetogênica estão protegidos da ocorrência de náuseas e vômitos por antagonistas de 5-HT, sugerindo que outros receptores além do 5-HT3 podem estar envolvidos (HERRSDEDT, 1995; LINDLEY & BLOWER, 2000).

Os agentes quimioterápicos e a radioterapia podem causar liberação de 5-HT nas terminações aferentes do nervo vago e na mucosa do trato gastrointestinal, principalmente no intestino delgado, iniciando reflexo de vômito pela ativação dos aferentes vagais nos receptores 5-HT3 (ROILA et al., 1993; WOOD, 1993; KÖSEOGLU et al., 1998).

A ativação dos aferentes vagais pode também causar liberação de 5-HT na área postrema, localizada no assoalho do quarto ventrículo, o que pode provocar emese através de um mecanismo central (MORROW et al., 1995; LICHTER, 1996).

A descoberta, em 1986, de que antagonistas de 5-HT que se ligam no receptor tipo 3 possuem atividades antieméticas levou à introdução, na clínica, de três membros da classe: ondansetron, granisetron e tropisetron (MORROW et al., 1995).

A metoclopramida foi a terapia de escolha na prevenção da emese induzida pela cisplatina até a descoberta dos antagonistas de receptores 5-HT3 (CUNNINGHAM, 1997). Inicialmente pensava-se que a metoclopramida, um dos primeiros fármacos utilizados na terapia antiemética, agia bloqueando os receptores dopaminérgicos localizados no cérebro, entretanto, em altas doses ela também atua como antagonista de receptores 5-HT3 localizados nos neurônios intestinais (MORROW et al., 1995). Segundo BONASSA (2000), a metoclopramida possui ação central, através da inibição da zona quimiorreceptora, e ação periférica, estimulando a mobilidade do estômago e do intestino delgado, prevenindo a estase e a dilatação gástrica, responsáveis pelo reflexo do vômito.

Outros antagonistas de receptores 5-HT3 recentemente usados na prática clínica, como ondansetron, são mais efetivos no controle de náuseas e vômitos que outros fármacos (KÖSEOGLU et al., 1998).

A potência e tempo de ação do ondansetron são menores do que aqueles dos outros antagonistas de 5-TH3; o que não significa que são necessárias várias doses do medicamento. Estudos demonstram que o controle da emese provocada por dose única intravenosa é tão eficaz quanto a administração de doses

intravenosas repetidas ou, até mesmo, infusão contínua. Provavelmente, a eficácia antiemética dos antagonistas 5-HT3 não esteja correlacionada aos seus níveis plasmáticos, mas à duração e intensidade de inibição dos receptores 5-TH3 centrais e periféricos (TSAVARIS et al., 1995; ROILA et al., 1997).

Deste modo, o efeito do ondansetron no controle da náusea e vômito, induzidos por quimioterapia citotóxica é devido ao antagonismo dos receptores 5-HT3 no trato gastrointestinal, e ação direta nos neurônios localizados nos sistemas nervosos periférico e central (ROILA et al., 1993; KÖSEOGLU et al., 1998).

Ondansetron é um antagonista seletivo de receptores 5-HT3, inicialmente desenvolvido para o tratamento de enxaqueca, sendo subseqüentemente aprovado, pela via oral ou intravenosa, na prevenção da emese induzida por agentes antineoplásicos (TYERS, 1992; ROILA et al., 1993; MORROW et al., 1995).

O fármaco é extensivamente metabolizado pelo fígado e os metabólitos são excretados nas fezes e urina. A ligação às proteínas plasmáticas é cerca de 70 a 76%. O ondansetron é liberado da circulação sistêmica predominantemente por metabolismo, com menos do que 5% do medicamento inalterado na urina (KOHLER & GOLDSPIEL, 1991).

O primeiro dado clínico do ondansetron no controle da emese induzida pela quimioterapia foi relatado em 1987; 14 de 15 pacientes portadores de neoplasias foram totalmente protegidos de episódios eméticos recebendo ondansetron (MORROW et al., 1995).

Segundo PEREZ & GUANDARA (1992) e HAINSWORTH (1992), o controle da náusea e vômitos em pacientes recebendo quimioterapia com cisplatina permanece difícil, apesar dos vários protocolos antieméticos existentes utilizando a metoclopramida.

De acordo com MORROW et al. (1995), somente 40% dos pacientes que recebem quimioterapia emetogênica tem náuseas e vômitos controlados por um único agente antiemético. Os agentes selecionados devem possuir mecanismos

de ação diferentes, diferentes sítios de atividade, além de não potencializarem a toxicidade.

Em pacientes submetidos à quimioterapia, ondansetron tem demonstrado eficácia superior a metoclopramida, associado a menor toxicidade (MILNE & HEEL, 1991; ROILA et al., 1993). Alguns efeitos indesejáveis observados com seu uso são dores de cabeça, diarréia, constipação, e elevação transitória de enzimas hepáticas (ROILA et al., 1993; MORROW et al., 1995).

A quimioterapia com cisplatina induz a um padrão bifásico de emese, que é caracterizado por uma fase aguda e outra tardia. Seguindo o pico inicial de emese intensa, que ocorre dentro das primeiras oito horas após a quimioterapia, há um pico secundário de emese tardia, que é definida como náuseas e vômitos que ocorrem após 24 horas da administração da cisplatina (KRIS et al., 1985).

Em estudo realizado por KÖSEOGLU et al. (1998), em que compararam a eficácia e efeitos colaterais do ondansetron em relação a metoclopramida no controle de náuseas e vômitos em crianças tratadas com cisplatina, eles concluíram que o ondansetron foi mais efetivo no controle do vômito agudo, ou seja, nas primeiras 24 horas. Após este período, observaram-se náuseas e vômitos em quatro dos cinco pacientes tratados. Ainda assim, ondansetron foi mais eficaz e apresentou menos efeitos colaterais que a metoclopramida, sendo o antiemético de escolha para pacientes recebendo quimioterapia com cisplatina, segundo os referidos autores.

Com o controle da emese aguda induzida pelos agentes quimioterápicos, como a cisplatina, a emese em longo prazo tem sido considerada como o maior problema clínico para pacientes recebendo quimioterapia. A emese em longo prazo é uma síndrome distinta, na qual os episódios eméticos ocorrem após 24 horas da administração da cisplatina (KRIS et al., 1985). Segundo KRIS et al. (1992), a patofisiologia desta condição é desconhecida e pode ser diferente da emese aguda, talvez causada por ação da cisplatina ou seus metabólitos no sistema nervoso central ou periférico.

Apesar da intensidade da emese em longo prazo não ser tão grave quanto a emese aguda após a administração da cisplatina, ela é observada em todos os pacientes que não recebem terapia antiemética específica. Deste modo, esforços têm sido feitos para controlar este tipo de emese (KRIS et al., 1992; MALATESTA et al., 1995; RUDD & NAYLOR, 1997). KRIS et al. (1992) demonstraram que o ondansetron administrado três vezes ao dia preveniu o aparecimento de vômitos em longo prazo somente em 15% dos pacientes. DEMULDER et al. (1990) não observaram melhora significativa no controle do vômito em longo prazo comparado com grupo placebo ou que recebeu metoclopramida.

RUDD & NAYLOR (1997) relataram que a emese em longo prazo é mais resistente ao uso dos antagonistas de receptores 5-HT3, e que o sucesso do tratamento requer a associação de corticosteróides ao protocolo.

De acordo com RUDD & NAYLOR (1997), fármacos como ondansetron e granisetron são os mais efetivos (>98%) na inibição da emese aguda, no período de quatro a seis horas após realização da quimioterapia, e possuem mais de 60% de efetividade na prevenção da resposta emética nas primeiras 24 horas após terapia com cisplatina.

Ondansetron retardou significantemente episódios eméticos em animais que receberam cisplatina, ciclofosfamida ou radioterapia em doses inferiores à metoclopramida e sem efeitos colaterais (TYERS et al., 1989).

BERRY et al. (1992) administraram ondansetron a pacientes na dose de 0,15 mg/kg a cada quatro horas por três dias, iniciando 30 minutos antes da quimioterapia com cisplatina e observaram que a terapia com ondansetron resultou em controle de náusea e vômito, com poucos efeitos colaterais, e proporcionou melhor qualidade de vida comparado à terapia antiemética padrão.

TSAVARIS et al. (1995) reuniram pacientes cancerosos em dois grupos, dos quais um grupo recebeu metoclopramida como antiemético e o outro recebeu ondansetron. Eles concluíram que o ondansetron foi mais eficiente que a metoclopramida, além de proporcionar menos efeitos colaterais como diarréia, vertigens, sintomas extrapiramidais e desequilíbrio eletrolítico de sódio, potássio,

magnésio, fósforo durante as primeiras 24 horas após a administração da cisplatina.

A combinação de corticóides e antagonistas de receptores 5-HT3 têm demonstrado eficácia na prevenção da emese aguda e em longo prazo induzida pela cisplatina, em seres humanos, conforme demonstrado por TANIHATA et al. (2000). Tem sido proposto que a inibição da síntese de prostanóides, pelos corticóides, pode estar envolvida na resposta antiemética. Adicionalmente, os corticóides são estabilizadores de membrana e alteram a permeabilidade na barreira hematoencefálica, reduzindo o influxo de substâncias emetogênicas no sistema nervoso central (TANIHATA et al., 2000).

Os agentes antieméticos antagonistas de receptores 5-HT3 têm demonstrado maior eficácia no controle de náuseas e vômitos que outros fármacos. Este controle parece ser maior nos protocolos quimioterápicos utilizando a cisplatina (MOOROW et al., 1995). A eficácia destes agentes parece diminuir quando os mesmos são usados por vários dias, e em ciclos repetidos de quimioterapia; sendo que a adição de esteróides no protocolo antiemético aumenta a eficiência do fármaco (MORROW et al., 1995; RUDD & NAYLOR, 1997).

Os dados obtidos por BRYSON (1992) indicaram que o ondansetron é seguro e bem tolerado pelos pacientes portadores de neoplasias, não apresentando efeitos colaterais importantes. Segundo o autor, a administração intravenosa de ondansetron resultou em baixa incidência de diarréia e discreta constipação.

2.5. Methimazole na prevenção da nefrotoxicidade induzida pela cisplatina

Methimazole (2-mercapto-1-metil imidazole), um fármaco comumente utilizado no tratamento de hipertireoidismo, vem sendo usado na redução da toxicidade renal induzida pelos agentes antineoplásicos, cisplatina, e outras nefrotoxinas em cães e animais de laboratório. Possui meia vida de nove horas (VAIL et al., 1993).

O mecanismo pelo qual o methimazole reduz ou elimina a doença renal causada pela cisplatina, apesar de não ser totalmente conhecido, é provavelmente atribuído ao seu efeito antioxidante, resultando na redução de radicais livres no rim (SAUSEN et al., 1992; OSMAN et al., 2000).

O mecanismo mais aceito de proteção renal conferido pelo methimazole, como citado por VAIL et al. (1993), está relacionado à sua estrutura de nucleófilo contendo enxofre. Além de agir como antioxidante, este fármaco restaura a defesa celular e bloqueia a peroxidação lipídica.

Os fármacos antioxidantes podem restaurar os mecanismos de defesa celulares, bloqueiam a peroxidação lipídica e, assim, protegem contra a toxicidade de vários antineoplásicos nefrotóxicos (ELFARRA et al., 1994).

Dados relatados por OSMAN et al. (2000) revelaram que a quimioterapia com cisplatina promove aumento significativo nos níveis renais de peróxidos lipídicos totais. O papel da peroxidação lipídica e sua posição na seqüência de eventos que induzem a nefrotoxicidade permanecem controversos. Muitos investigadores tentam discutir o mecanismo da peroxidação lipídica induzida pela cisplatina. HANNEMANN & BAUMANN (1988) sugeriram que a geração de radicais livres e a subseqüente peroxidação lipídica são a causa da nefrotoxicidade. Entretanto, segundo OSMAN et al. (2000), o aumento de peróxidos lipídicos pode não ser o principal fator responsável pela nefrotoxicidade induzida pela cisplatina.

LIEBERTHAL et al. (1996) mostraram em seu experimento, que a cisplatina induz à fragmentação do DNA celular. Neste estudo, os mecanismos de morte celular (necrose ou apoptose) induzidos pela cisplatina em culturas primárias de células do túbulo proximal de camundongos foram investigados através do estudo das características das células e eletroforese em gel do DNA. Eles propuseram que ambas as formas de morte celular podem contribuir para a nefrotoxicidade associada à cisplatina. Em adição, estes pesquisadores relataram que vários antioxidantes minimizaram a apoptose e não a necrose induzida pela cisplatina. Isto indica importante papel da geração dos radicais livres na apoptose induzida pela cisplatina.

OSMAN et al. (2000) observaram redução da fragmentação do DNA da célula renal em animais pré-tratados com methimazole. Segundo eles, o mecanismo mais provável de proteção renal conferido ao methimazole pode estar relacionado à sua estrutura contendo enxofre. Assim ele pode agir como antioxidante, restaurar os mecanismos de defesas celulares, bloquear a peroxidação lipídica e minimizar a fragmentação de DNA induzida pela cisplatina.

Outros nucleófilos contendo enxofre têm sido reportados por conferir proteção contra a nefrotoxicidade da cisplatina, incluindo dietilditiocarbamato, tiouréia e metionina. Porém estes compostos possuem efeitos tóxicos que fazem seu uso terapêutico questionável (BORCH & MARKMAN, 1989). Methimazole tem sido usado com segurança na medicina, e sua dosagem terapêutica tem protegido contra a nefrotoxicidade, além de não causar hepatotoxicidade.

O efeito protetor do methimazole na nefrotoxicidade induzida pela cisplatina foi estudado em cães por VAIL et al. (1993). Os animais receberam 40 mg/kg methimazole, por via intra-peritoneal, 30 minutos antes e quatro horas após a cisplatina, sem prehidratação com solução salina. O fármaco foi bem tolerado pelos animais, não apresentando toxicidade clínica ou clinicopatológica. Neste estudo, o methimazole impediu o aumento do nitrogênio protéico e da concentração sérica de creatinina, além de reduzir o desenvolvimento de lesões histológicas renais após doses de cisplatina conhecidas como causadoras de tais

lesões.

VAIL et al. (1993) ainda reportaram queda da densidade urinária dos animais submetidos à quimioterapia com cisplatina. Nos cães que não receberam methimazole, estes níveis chegaram a isostenúria, indicativo de perda da habilidade de concentração renal; porém os animais que foram medicados com methimazole tiveram declínio menos pronunciado da densidade urinária.

Quando o methimazole é usado no tratamento do hipertireoidismo por um a dois anos, ele é geralmente bem tolerado pelos pacientes, não se observando hipotireoidismo subsequente. Deste modo, o longo período requerido para que o methimazole cause efeitos antitireóide permite o uso deste fármaco para bloquear seletivamente a nefrotoxicidade química induzida, com mínima ou nenhuma inibição da função tireóidea (ELFARRA et al., 1994).

VAIL et al. (1994) não encontraram diminuição das concentrações séricas de T_3 e T_4 em cães após única administração intravenosa de methimazole (40 mg/kg). Para eles, apesar de os fármacos antitireoidianos interferirem com a síntese de hormônios tireoidianos, existe quantidade considerável desses hormônios estocados na glândula, o que permite que seus níveis permaneçam estáveis.

Em um estudo realizado por VAIL et al. (1994), utilizando o cão como modelo, a administração de methimazole preveniu o aumento de nitrogênio não protéico e da creatinina sérica, além de minimizar o desenvolvimento de lesões histológicas renais após altas doses de cisplatina conhecidas em causar tais alterações.

BRÄUNLICH et al. (1997) estudaram o efeito do methimazole sobre a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina em ratos, e observaram que o tratamento com methimazole reduziu o efeito oligúrico da cisplatina e a depressão da excreção renal de sódio.

ELFARRA et al. (1994) estudaram o efeito do tratamento com methimazole sobre a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, usando protocolos conhecidos em causar lesão renal. Observaram que o methimazole protegeu os

animais contra a nefrotoxicidade quando administrado 30 minutos antes e quatro horas após a quimioterapia.

OSMAN et al. (2000) concluíram em seu experimento que o methimazole é um fármaco promissor de interesse clínico usado como protetor renal contra a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, sem interferir com a atividade antitumoral do antineoplásico.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Animais

Foram utilizados 12 cães, machos, com peso médio de 15 quilos, sem raça definida, considerados sadios, fornecidos pelo Canil Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade de Marília (UNIMAR), SP.

Os animais selecionados, após serem identificados, vacinados[1], vermifugados[2] e banhados, foram alojados sob condições adequadas de higiene, em boxes individuais no canil.

A alimentação foi feita com único tipo de ração industrializada, para cães adultos, e água *ad libitum*. Os cães permaneceram alojados por um período de 35 dias para adaptação ao ambiente e manejo.

Os animais foram divididos, aleatoriamente, em quatro grupos experimentais (G1, G2, G3 e G4), sendo constituídos de três animais por grupo.

3.2 - Delineamento experimental

Cada grupo foi dividido conforme o tempo de fluidoterapia:

G1 – sem fluidoterapia,

G2 – uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina,

G3 – uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina e uma hora após,

G4 – duas horas de fluidoterapia antes da cisplatina e uma após.

Todos os animais receberam cisplatina[3] na dose de 70 mg/m^2, por via intravenosa, diluída em solução fisiológica, e administrada por um período de 20 minutos. Neste protocolo, a fluidoterapia foi realizada com solução salina 0,9%,

[1] DURAMUNE V8 – Fort Dodge Ltda.
[2] Bay O Pet ® Drontal Plus – Bayer Saúde Animal
[3] CISPLATINA – Eli Lilly do Brasil Ltda, São Paulo – SP.

numa velocidade de 25ml/kg/hora. Os ciclos de quimioterapia foram realizados em intervalos de três semanas totalizando três ciclos.

Em todos os grupos, o ondansetron[4] foi administrado na dose de 0,4 mg/kg, por via intravenosa, a cada oito horas, no dia da quimioterapia, começando 30 minutos antes da quimioterapia, e a seguir a cada 12 horas por dois dias. O methimazole[5] foi administrado na dose de 40mg/kg, por via oral, 30 minutos antes da cisplatina e quatro horas após.

3.3. Colheita de amostras e exames laboratoriais

3.3.1. Hemograma

Por meio de venipunção da cefálica, foram colhidos 2,0 ml de sangue envasados em recipientes adequados contendo o ácido etileno diaminotetracético dissódico (EDTA) a 10%, na proporção de 1 mg/ml de sangue e processadas imediatamente junto ao Interferon Laboratório[6]. As amostras de sangue foram diluídas em solução[7] isotônica diluente de sangue para uso em contadores eletrônicos de células, utilizando diluidor automático[8] de sangue. As contagens eritrométricas e leucométricas totais foram realizadas em contador automático[9] de hemácias e leucócitos. A hemoglobina determinada por meio de hemoglobinômetro[10]; o volume globular através de microhematócrito[11]. A plaquetometria foi realizada através de contador eletrônico de células.

---

[4] ZOFRAN – Glaxo Welcome Ltda
[5] TAPAZOL – Eli Lilly do Brasil Ltda, São Paulo - SP
[6] INTERFERON Laboratório de Análises Clínicas e Diagnóstico Veterinário, Marília - SP
[7] ISOCELM I – CELM, Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos, São Paulo - SP
[8] CELM, modelo DA 510
[9] CELM, modelo CC 510
[10] CELM, modelo HB 520
[11] FANEM, modelo 211

Esfregaços de sangue foram preparados e corados com uma mistura de metanol, May-Grunwald e Giemsa, para determinação dos elementos figurados do sangue, fórmulas leucocitárias absoluta e relativa.

O hemograma foi realizado imediatamente antes dos ciclos de quimioterapia e, durante a fase experimental, a cada sete dias, num total de dez análises.

3.3.2 Urinálise

As amostras de urina foram obtidas por cateterismo vesical, utilizando-se sonda[12] flexível de P.V.C., atóxica-siliconizada de número 04 ou 06, conforme o diâmetro uretral de cada animal e analisadas no máximo 30 minutos após a colheita.

A densidade urinária foi determinada através de refratrometria[13].

O pH, leucócitos, nitritos, proteínas, corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina e sangue, foram avaliados através de tiras reagentes[14] para diagnósticos. Para os exames de sedimentoscopia urinária, a sedimentação das amostras foi realizada em centrífuga[15], as lâminas foram montadas e, levadas para observação em microscópio com aumento de 250 a 400 x.

As urinálises foram realizadas antes do primeiro ciclo de quimioterapia e, posteriormente a cada sete dias, num total de dez análises.

[12] SONDA URETRAL – Embramed Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, SP
[13] REFRATÔMETRO ATAGO
[14] COMBUR 10 TEST, Boehringer Mannheim Argetina SA., Buenos Aires
[15] EXECELSA BABY II – FANEM, modelo 206-R

3.3.3. Bioquímica sérica

Foram colhidos 10,0 ml de sangue, por venipunção da jugular externa, e após coagulação, as amostras foram processadas a 2.000 r.p.m. em centrífuga, durante 5 minutos. Após a sinérese, e utilizando o sistema Labtest[16] para diagnósticos, as alíquotas das amostras de soro foram processadas, com o uso de conjunto de reagentes para determinação de creatinina sérica; uréia; proteínas totais; albumina; alanina amino transferase; bilirrubinas direta e total; fosfatase alcalina. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro[17], considerando-se a faixa visível para as respectivas provas bioquímicas.

As provas bioquímicas foram realizadas imediatamente antes do primeiro ciclo de quimioterapia, e depois a cada sete dias, num total de dez análises.

3.3.4. Dosagens de fósforo, potássio, cálcio e magnésio séricos

Para dosagens das concentrações séricas de fósforo, potássio, cálcio e magnésio as amostras foram processadas através de medida colorimétrica (espectofotometria) utilizando-se kits Labtest.

Estas análises foram realizadas imediatamente anterior ao primeiro ciclo de quimioterapia, e depois a cada sete dias, num total de dez análises.

3.3.5. Bioquímica plasmática

Determinou-se a concentração de glicose em plasma fluoretado (Glicose GOD-ANA), utilizando kits Labtest. Para todos os animais, os valores de glicose

[16] LABTEST- Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG
[17] CELM, modelo E-225 D.

foram determinados a cada sete dias a partir do primeiro ciclo de quimioterapia, num total de dez análises.

3.3.6. Tiroxina e 3,5,3'-triiodotironina.

Os valores de tiroxina e 3, 5,3'-triiodotironina foram mensurados através de kits comerciais[18] , antes do primeiro ciclo de quimioterapia e depois a cada sete dias, num total de dez análises.

Os ensaios para dosagens hormonais foram realizados no Laboratório Interferon, utilizando-se a técnica de radioimunoensaio (RIE), em fase sólida, e, para isso foram utilizados conjuntos de reagentes comerciais desenvolvidos para avaliação quantitativa dos hormônios triiodotironina e tiroxina, sem qualquer extração química e processo de purificação, utilizando-se do I^{125} como elemento radioativo traçador.

Para a realização das análises hormonais, as amostras de soro foram descongeladas juntamente com o reagente específico para cada hormônio até atingirem a temperatura ambiente, após o que os frascos contendo amostras de soro foram agitados antes do uso. Os procedimentos empregados nas dosagens foram os especificados pelo fabricante dos kits.

As contagens de radioatividade foram obtidas pela utilização de contador gama automático, modelo *Gamma* calibrado para I^{125}.

Os resultados foram fornecidos pelo emprego do programa específico de computador equipado com impressora.

18 – COAT-A-COUNT T3 e T4 – Diagnostic Products Corporation, Los Angeles.

3.4. Características clínicas

Realizou-se exame físico completo periódico nos animais entre os ciclos de quimioterapia, além de se avaliar presença e freqüência de episódios eméticos, alterações de comportamento, apetite, urina, defecação, sialorréia, hiperemia cutânea, tremores musculares, prostração, dispnéia, toxicidade gastrointestinal, alopecia, perda de peso e outros parâmetros que fossem considerados importantes.

3.5. Análise estatística dos valores obtidos

Os dados foram analisados, para as variáveis quantitativas, segundo a análise de variância de medidas repetidas, com dois fatores, grupo (com quatro níveis) e ciclo (com três níveis) entre os animais e um fator tempo (com quatro níveis) dentro dos animais. Foram utilizados três animais por grupo. Utilizou-se o teste t Student nas comparações múltiplas (ZAR, 1999).

Para as análises qualitativas usou-se o teste exato de Fisher (independência) (ZAR, 1999).

Os momentos de colheita para análise dos dados do eritrograma, leucograma, plaquetograma, parâmetros bioquímicos séricos e plasmáticos e dosagem hormonal de T3 e T4 foram classificados como:

M0 – colheita inicial prévia ao primeiro ciclo de quimioterapia

Primeiro ciclo de quimioterapia:

M1 – colheita sete dias após primeiro ciclo de quimioterapia

M2 – colheita 14 dias após primeiro ciclo de quimioterapia

M3 – colheita 21 dias após primeiro ciclo de quimioterapia

Segundo ciclo de quimioterapia:

M4 – colheita sete dias após segundo ciclo de quimioterapia

M5 – colheita 14 dias após segundo ciclo de quimioterapia

M6 – colheita 21 dias após segundo ciclo de quimioterapia

Terceiro ciclo de quimioterapia:

M7 – colheita sete dias após terceiro ciclo de quimioterapia

M8 – colheita 14 dias após terceiro ciclo de quimioterapia

M9 – colheita 21 dias após terceiro ciclo de quimioterapia

4. RESULTADOS

4.1. Hemograma

Os resultados das análises de variância das variáveis do hemograma estão apresentados no quadro 01.

4.1.1. Eritrograma

Os valores médios obtidos e seus comportamentos ao longo do experimento, para os diferentes parâmetros do eritrograma estão apresentados nas tabelas e figuras 01, 02, 03, 04 e 05.

Observou-se que os valores médios referentes ao número de hemácias, taxa de hemoglobina e hematócrito apresentaram-se dentro da normalidade durante todo período experimental. Entretanto, verificou-se que a variável hemoglobina (tabela e figura 01) apresentou diferença significativa, na interação tripla (grupo x ciclo x tempo), nos momentos M1, M3, M4, M5 e M6.

Os valores médios dos índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentaram-se dentro dos limites da normalidade esperada, não havendo diferença significativa entre os grupos.

Tabela 01. Valores médios da variável hemácia (x10^6/µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo I				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	6,67	5,98	5,80	6,24	6,92	6,23	6,16	6,13	6,84	6,48
	G2	6,98	6,59	6,31	7,63	7,56	7,50	7,39	7,45	7,92	7,13
	G3	8,64	8,52	7,64	8,05	7,85	7,61	7,72	8,23	7,34	7,27
	G4	7,76	7,87	7,45	7,71	7,49	7,78	7,46	7,53	7,49	7,73

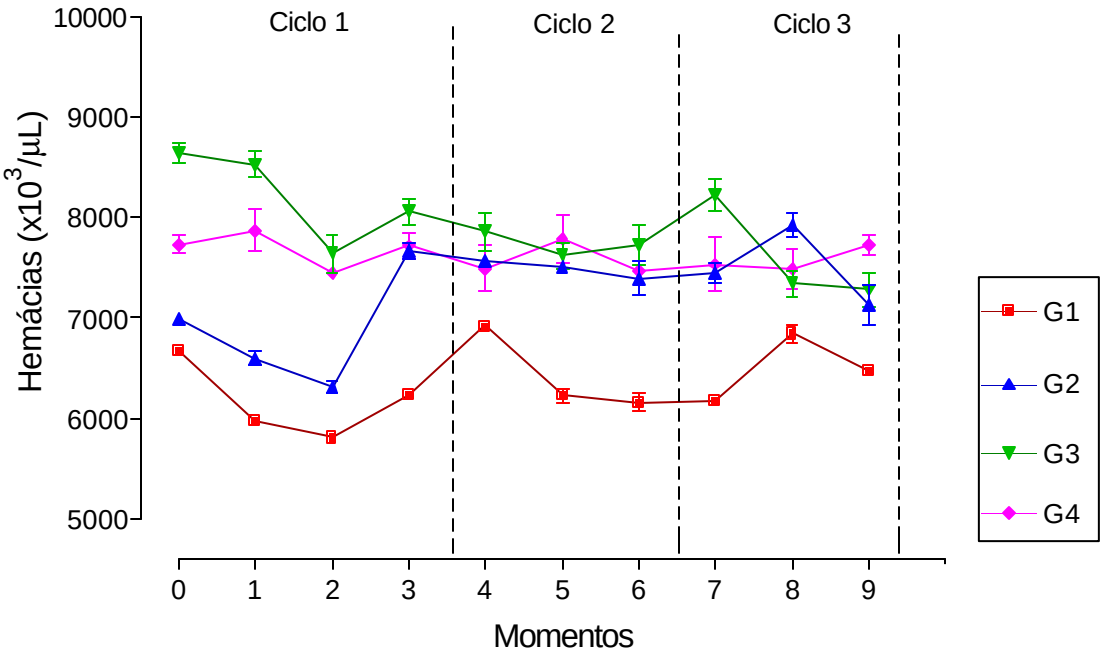


Figura 01. Valores médios e erro padrão da variável hemácia (x10^3/µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 02. Valores médios da variável hemoglobina (g/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	14,3a	13,5a	14,0a	14,0a	13,9a	13,8a	14,2a	15,6a	15,3a	15,3a
	G2	15,3a	14,2a	14,4a	15,6b	15,6b	15,0b	15,6b	15,4a	16,0a	16,3a
	G3	16,0a	16,0b	15,3a	16,0b	15,6b	15,6b	16,3b	16,6a	15,0a	16,6a
	G4	15,0a	15,6b	15,3a	15,6b	15,6b	16,0b	16,6b	15,6a	15,6a	16,0a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

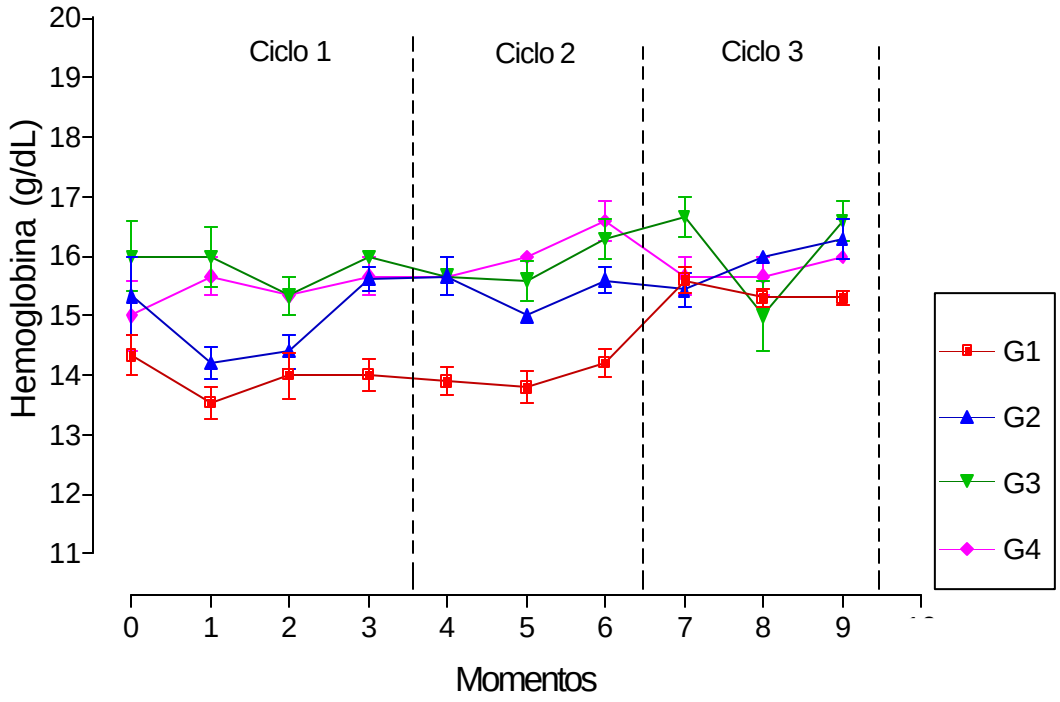


Figura 02. Valores médios e erro padrão da variável hemoglobina (g/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 03. Valores médios da variável hematócrito (%) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	40,6	39,6	39,6	41,0	40,5	41,0	40,5	39,6	40,3	41,0
	G2	41,3	43,0	42,3	45,0	44,0	44,0	42,6	44,3	45,6	41,6
	G3	45,3	45,0	42,6	44,0	44,3	43,3	43,6	46,3	42,0	41,6
	G4	42,0	42,3	42,3	41,3	42,0	42,3	42,6	41,6	42,9	42,6

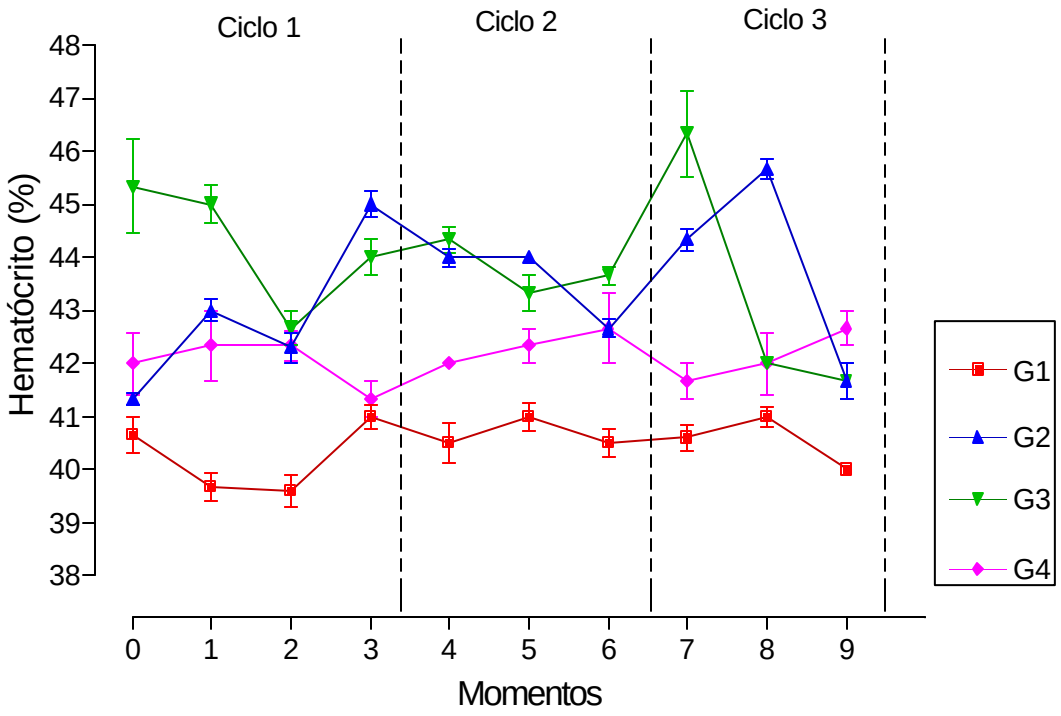


Figura 03. Valores médios e erro padrão da variável hematócrito (%) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 04. Valores médios obtidos para VCM (fL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	60,8	66,04	68,2	65,00	60,8	65,00	65,7	64,66	65,00	62,00
	G2	64,66	64,33	62,83	61,66	59,00	60,66	60,60	60,83	62,66	66,76
	G3	61,53	60,03	59,36	62,83	60,56	62,10	60,83	64,40	61,33	63,43
	G4	60,76	62,67	60,33	60,33	61,66	62,67	62,00	61,66	61,50	62,00

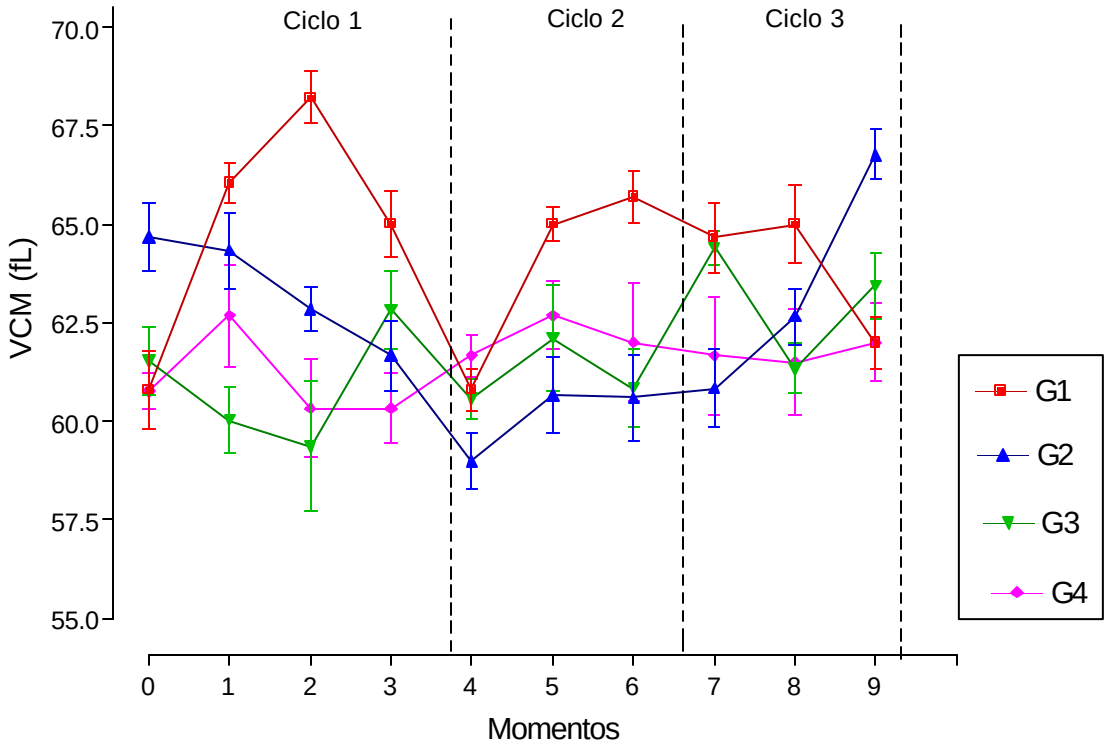


Figura 04. Valores médios e erro padrão obtido para VCM (fL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 05. Valores médios da variável CHCM (%) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	32,00	34,27	33,50	31,66	32,33	32,33	32,83	32,16	32,66	33,16
	G2	33,83	31,50	32,66	33,66	32,00	34,23	33,13	33,13	34,20	34,13
	G3	33,33	34,23	32,00	34,33	34,46	33,93	34,20	33,60	34,33	34,16
	G4	33,63	34,20	33,66	34,66	33,23	33,16	34,33	33,66	33,33	34,66

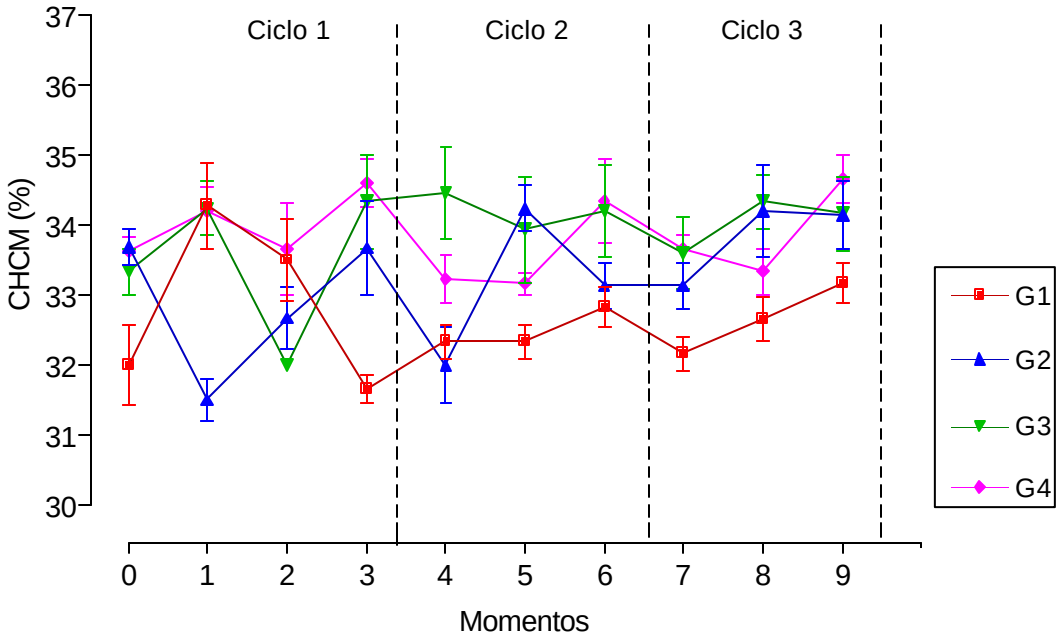


Figura 05. Valores médios e erro padrão da variável CHCM (%) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.1.2. Leucograma

Os resultados dos valores obtidos para a contagem das formas leucocitárias absolutas demonstradas nas tabelas e figuras 06, 07, 08, 09, 10 e 11 revelam que os diferentes grupos apresentaram diferenças significativas na interação tripla (grupo x ciclo x tempo), entre os protocolos de tratamento, para os

valores das contagens globais de leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados e eosinófilos.

Pelos valores da tabela e figura 06, verifica-se que nos momentos M2 e M6 as contagens globais de leucócitos apresentaram diferenças significativas entre os diferentes grupos. Porém, verifica-se que os valores médios obtidos para as contagens absolutas de neutrófilos bastonetes (tabela e figura 07) apresentaram diferenças significativas nos momentos M2, M3, M5, M6 e M9, apesar de estarem dentro do limite de normalidade. Também os neutrófilos segmentados (tabela e figura 08) apresentaram variações significativas entre os grupos nos momentos M0, M2, M5, M6 e M9, mantendo, no entanto, os valores globais dentro dos limites da normalidade. Do mesmo modo, os eosinófilos (tabela e figura 09), apesar de apresentarem variações significativas nos momentos M0, M1 e M2, mantiveram os valores globais nos limites da normalidade.

Os valores de linfócitos e monócitos não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, apresentando os valores globais dentro dos limites de normalidade.

Tabela 06. Valores médios da variável leucócitos totais (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	16716a	7910a	10420a	5856a	8306a	9833a	14080a	9819a	7950a	9236a
	G2	10400a	7990a	6936b	6766a	6583a	7063a	6330b	7264a	7016a	7966a
	G3	10633a	7783a	7853b	7616a	9720a	7066a	5803b	10558a	5920a	11060a
	G4	11563a	8597a	8077b	7650a	6324a	6410a	7618b	7478a	6533a	8876a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

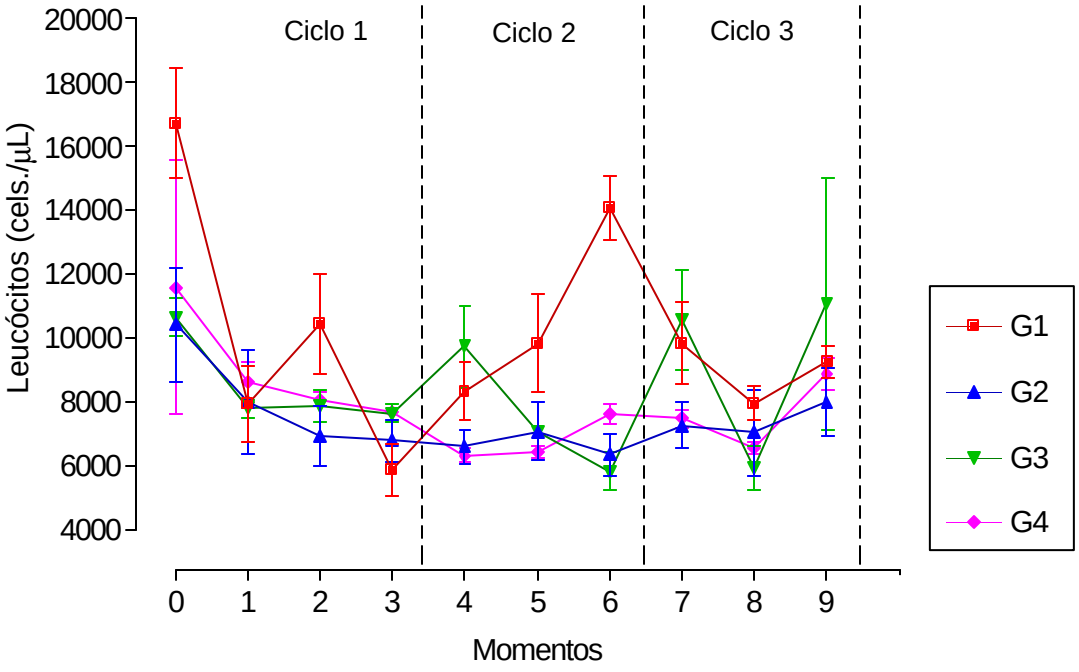


Figura 06. Valores médios e erro padrão da variável leucócito (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 07. Valores médios da variável neutrófilos bastonetes (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	0,00a	219a	390a	357a	308a	261a	287a	332a	336a	274a
	G2	0,00a	301a	376a	180b	345a	275b	251b	192a	208a	120b
	G3	0,00a	236a	263b	277b	354a	231b	218b	229a	238a	268a
	G4	0,00a	201a	236b	294b	225a	163b	267b	201a	225a	300a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

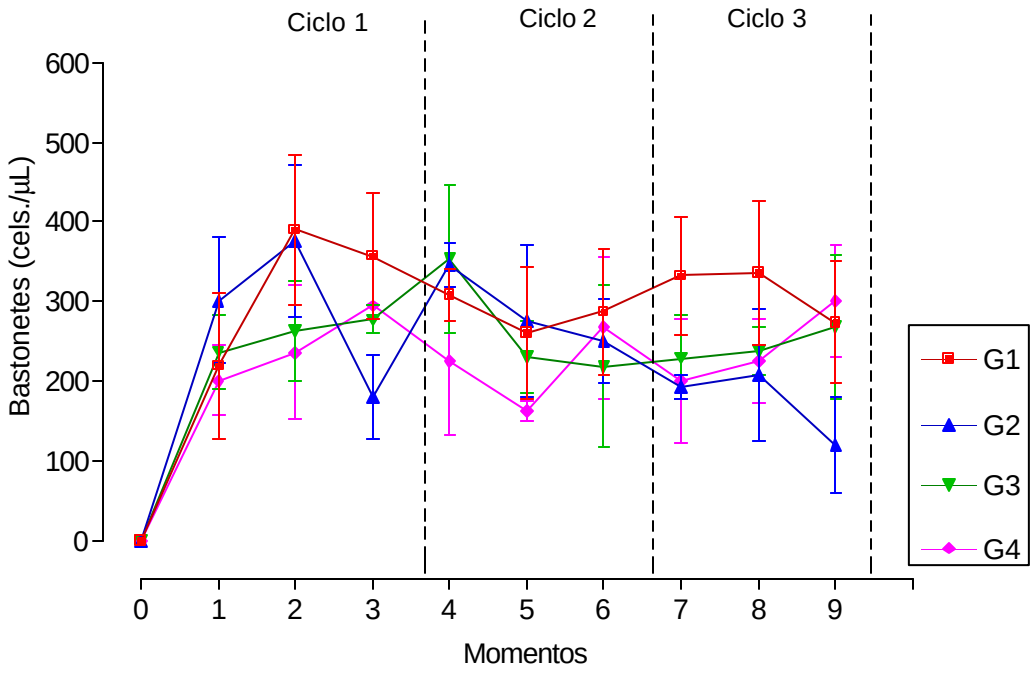


Figura 07. Valores médios e erro padrão da variável neutrófilos bastonetes (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 08. Valores médios da variável neutrófilos segmentados (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	12077a	6660a	6181a	2644a	3582a	6857a	8732a	4964a	4149a	5633a
	G2	6541b	4049a	3045b	3139a	3055a	3432b	3386b	2245a	3578a	2882b
	G3	5911b	4249a	3646b	3784a	4631a	3685b	3464b	5110a	3798a	6816a
	G4	7242b	4864a	3258b	3693a	2657a	2883b	3285b	3628a	3784a	5376a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

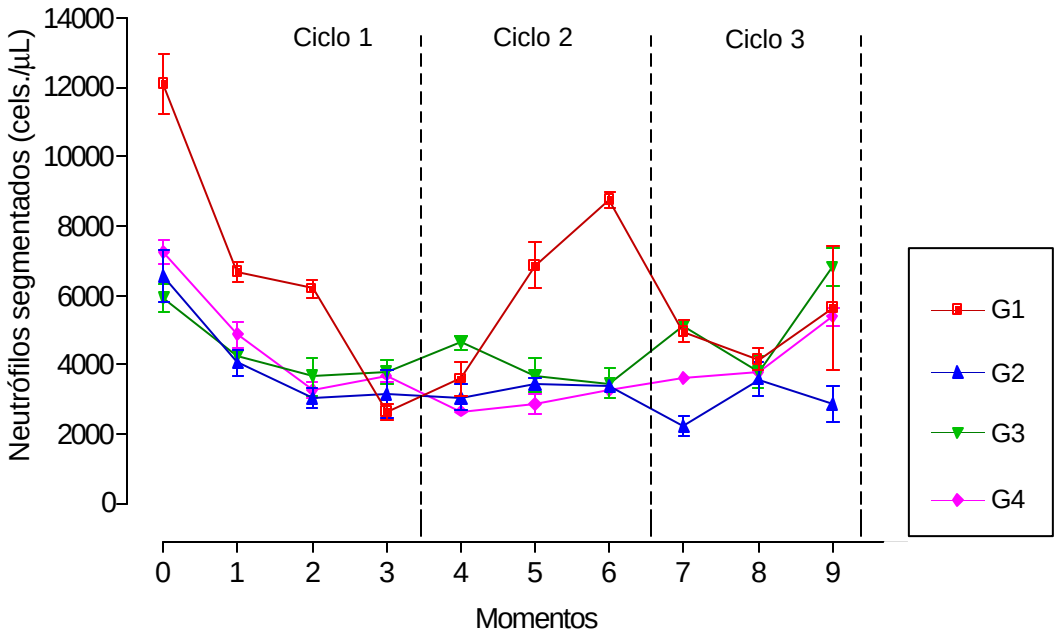


Figura 08. Valores médios e erro padrão da variável neutrófilos segmentados (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 09. Valores médios da variável eosinófilos (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	572,0a	449,3a	1181,0a	320,6a	597,7a	239,0a	852,0a	581,0a	417,0a	301,3a
	G2	627,3a	139,3b	275,6b	245,6a	178,6a	806,6a	285,0a	392,3a	337,6a	349,3a
	G3	246,3b	667,6b	229,6b	342,0a	609,0a	663,3a	98,00a	644,6a	387,3a	229,0a
	G4	589,3a	422,3a	321,6b	318,6a	393,3a	561,6a	452,6a	583,6a	582,6a	380,0a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

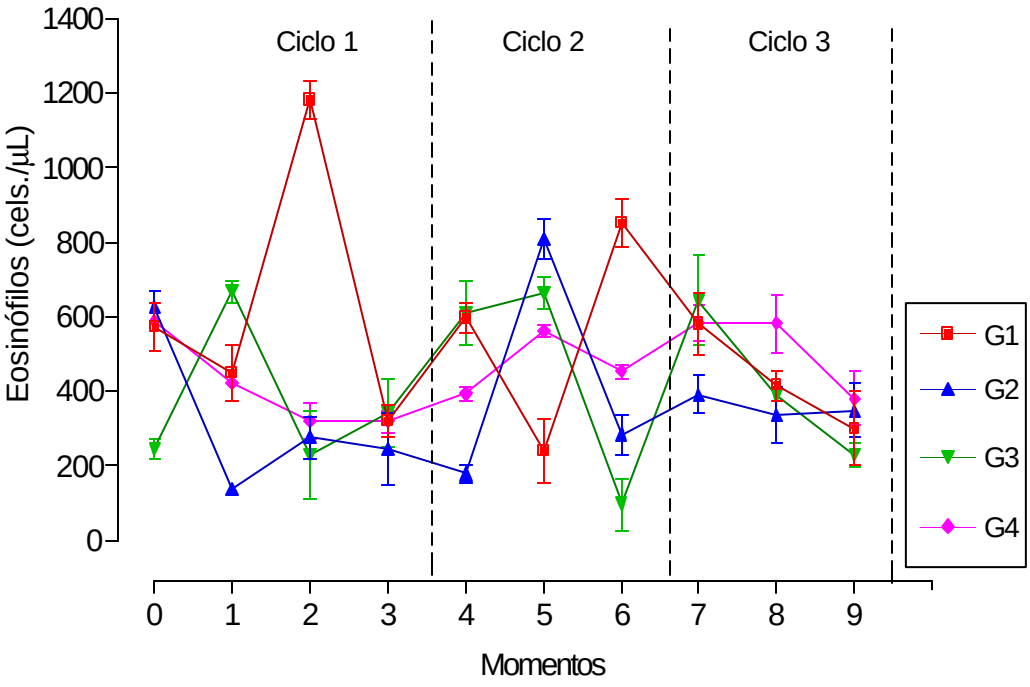


Figura 09. Valores médios e erro padrão da variável eosinófilos (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 10. Valores médios obtidos da variável linfócitos (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	3538	1903	2329	2130	1495	2670	2941	2687	2768	2585
	G2	3269	2152	2955	2251	1666	1943	1889	2379	1560	2218
	G3	3969	2528	2637	3047	3777	2616	3279	4380	2256	3249
	G4	3378	2768	3220	3112	2432	2693	3218	2513	2894	2681

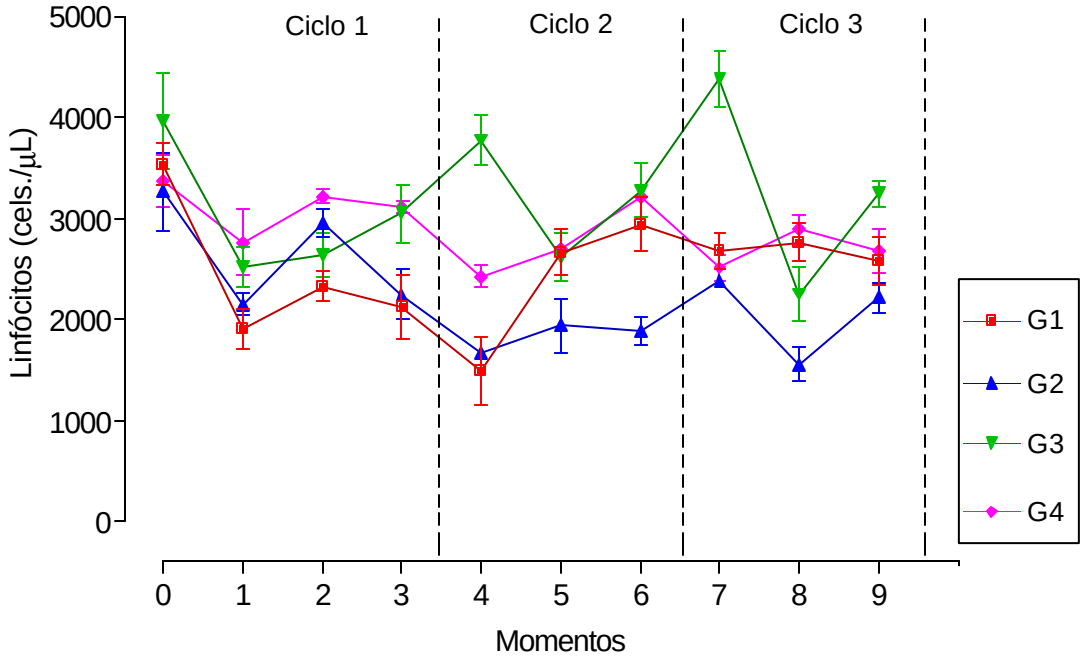


Figura 10. Valores médios e erro padrão da variável linfócitos (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 11. Valores médios da variável monócitos (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	527	494	436	187	201	125	227	217	215	301
	G2	353	212	336	165	233	205	196	178	122	164
	G3	392	343	310	123	147	150	222	181	193	197
	G4	446	310	353	186	356	294	251	203	323	203

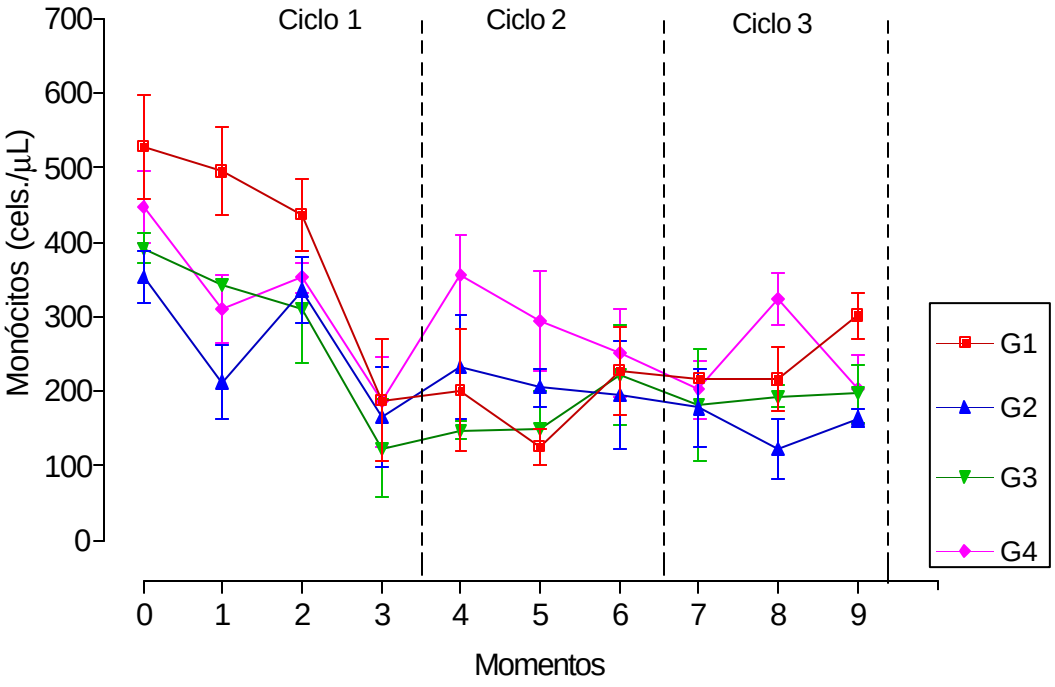


Figura 11. Valores médios e erro padrão da variável monócitos (cels./µL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.1.3. Plaquetograma

Os valores médios encontrados para as contagens globais de plaquetas estão demonstrados na tabela e figura 12. Observou-se, durante todo período experimental, que não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum momento, com os valores dentro dos parâmetros da normalidade. No entanto, os animais do grupo G1 apresentaram as menores contagens globais de plaquetas.

Tabela 12. Valores médios da variável plaquetas ($x10^3/\mu L$) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	227	219	230	259	234	233	237	241	218	221
	G2	254	266	263	263	265	273	280	281	281	283
	G3	275	287	279	271	277	276	254	279	282	280
	G4	259	271	281	284	278	293	287	293	293	288

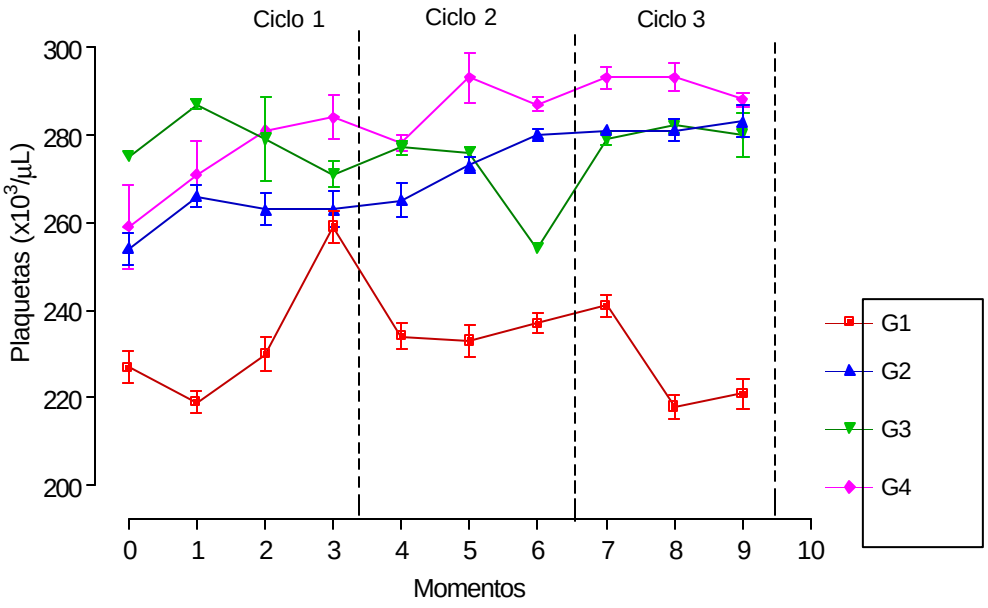


Figura 12. Valores médios da variável plaquetas ($x10^3/\mu L$) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.2. Urinálise

Os resultados obtidos para as características físico-químicas (pH, densidade e proteínas) da urina, ao longo do período experimental, estão expressos nas tabelas e figuras 13 a 15. Nota-se que, com relação ao pH, não houve diferença significativa na interação tripla (grupo x ciclo x tempo) em nenhum momento do período experimental. Porém, os valores da densidade urinária apresentaram diferenças significativas na interação tripla (grupo x ciclo x tempo) nos momentos M1 a M8; sendo que os animais dos grupos G1 e G2 foram aqueles que apresentaram os menores valores.

Pela análise qualitativa, utilizando o teste de Fisher, verificou-se diferença significativa entre os grupos com relação à presença da proteína na urina, sendo que os animais dos grupos G1 e G2 apresentaram, em todos os momentos do período experimental, presença de proteína urinária.

Os demais parâmetros físico-químicos e sedimentoscópicos da urina apresentaram-se dentro dos valores da normalidade em todos os momentos do período experimental.

Tabela 13. Valores médios da variável pH urinário em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	6,8	6,7	6,6	6,0	6,1	6,5	6,0	6,0	6,5	6,3
	G2	6,8	6,8	6,5	6,7	6,6	6,5	6,0	6,4	6,8	6,6
	G3	6,6	7,0	6,6	6,3	6,1	6,3	6,5	6,3	6,3	6,8
	G4	6,5	6,3	6,8	6,8	6,6	6,5	6,3	6,3	6,0	6,6

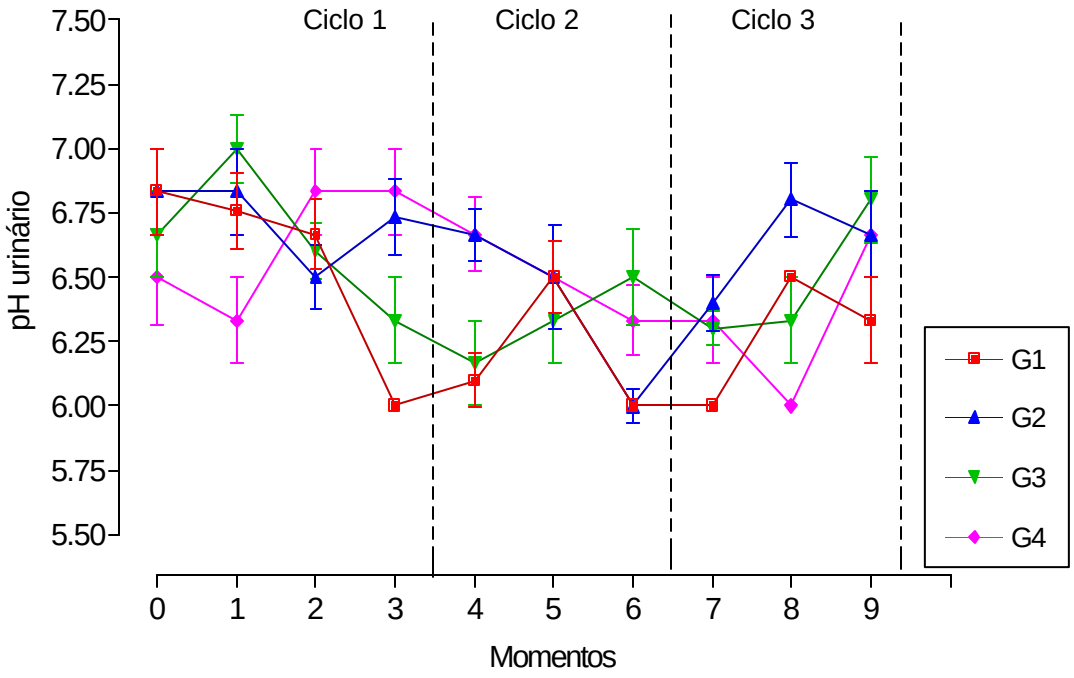


Figura 13. Valores médios e erro padrão da variável pH urinário em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 14. Valores médios da variável densidade urinária em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	1028a	1019a	1012a	1013a	1009a	1008a	1011a	1010a	1016a	1020a
	G2	1022a	1011b	1014a	1015a	1012a	1015a	1011a	1010a	1018a	1020a
	G3	1019a	1020a	1022b	1023b	1029b	1020b	1022b	1023b	1028b	1028a
	G4	1026a	1022a	1021b	1023b	1020b	1023b	1021b	1025b	1025b	1028a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

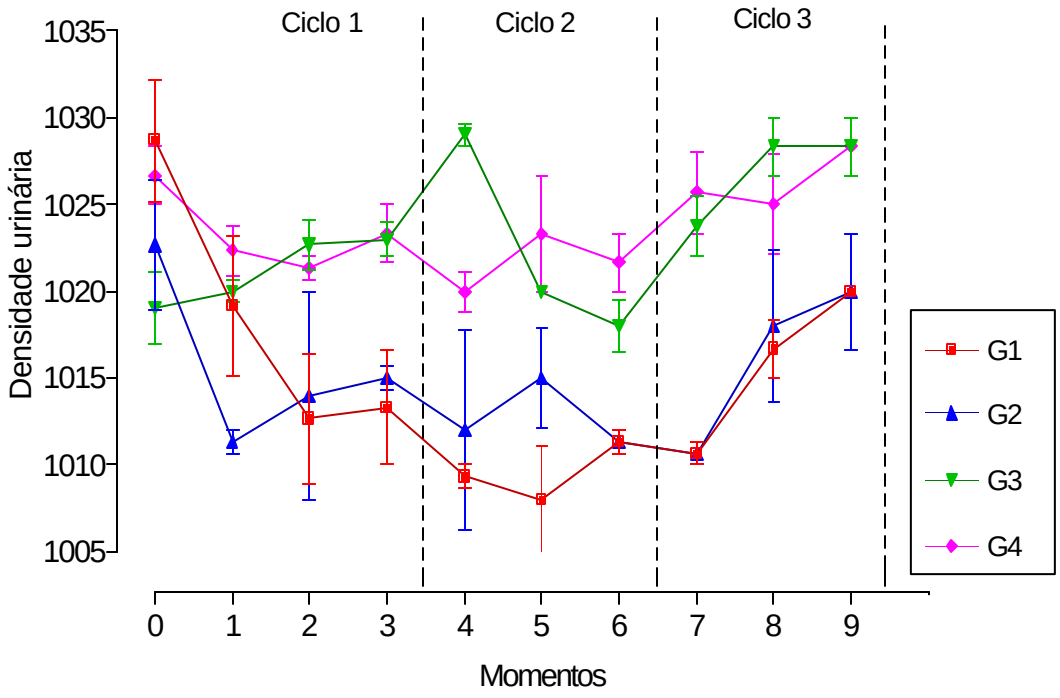


Figura 14. Valores médios e erro padrão da variável densidade urinária em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 15. Valores médios da variável proteína urinária em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1*				Ciclo 2*			Ciclo 3*		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	1	2	2	3	3	2	3	4	3	2
	G2	2	3	2	3	2	2	4	3	2	2
	G3	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1
	G4	1	2	2	1	2	1	2	2	1	1

1. ausência de proteína na urina; 2. positivo (+); 3. positivo (++); 4. positivo (+++)

* . Significativo pelo teste exato de Fisher 0,5%

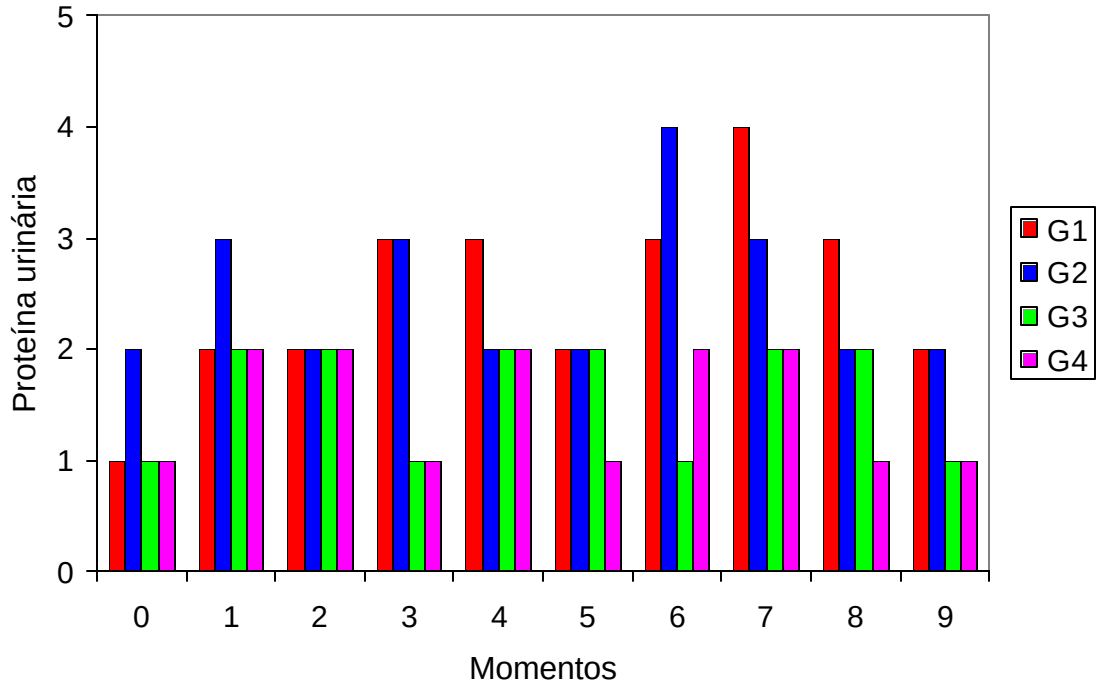


Figura 15. Valores médios da variável proteína urinária em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.3. Bioquímica sérica

Os resultados das análises de variância das variáveis bioquímicas séricas estão apresentados no quadro 02.

Os valores médios obtidos para os parâmetros bioquímicos séricos (uréia, creatinina, proteínas totais, albumina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, bilirrubina direta, bilirrubina total, cálcio, fósforo, magnésio e potássio) estão expressos nas tabelas e figuras 16 a 27.

Observaram-se elevações nos valores médios obtidos para uréia nos grupos G1 e G2 em relação aos demais, havendo diferenças significativas, na interação tripla (grupo x ciclo x tempo), em todos os momentos do período experimental. Verificou-se, com relação a creatinina, que houve diferença significativa, na interação tripla (grupo x ciclo x tempo), entre os valores médios nos momentos M2 a M9, sendo os animais do grupo G1 e G2 aqueles que apresentaram os maiores valores.

Com relação às proteínas totais e à albumina, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados, sendo que a maioria dos valores média permaneceu dentro dos padrões da normalidade.

Os níveis de alanina aminotransferase apresentaram diferenças significativas na interação tripla (grupo x ciclo x tempo) nos momentos M1, M2, M3, M4, M6, M7, M8 e M9, sendo os animais do grupo G3 aqueles que apresentaram valores ligeiramente menores; porém ainda dentro dos limites da normalidade. Com relação aos valores médios da fosfatase alcalina, estes permaneceram dentro da normalidade e não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Verificou-se, com relação à bilirrubina direta, que houve diferença significativa na interação tripla (grupo x ciclo x tempo) nos momentos M1 a M6, apesar de os valores permanecerem dentro dos limites da normalidade; entretanto, os valores médios para bilirrubina total não demonstraram diferença significativa e estavam dentro da normalidade.

Os íons cálcio, fósforo, potássio e magnésio apresentaram valores médios dentro dos limites normais durante todo o período experimental, sem diferença significativa na interação tripla (grupo x ciclo x tempo).

Tabela 16. Valores médios da variável uréia (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	31,9a	44,5a	50,0a	63,5a	52,0a	65,6a	54,8a	60,0a	68,9a	57,7a
	G2	36,1a	47,9a	45,9b	58,0a	56,9a	59,0a	56,9a	53,0b	53,7b	55,2a
	G3	39,6a	59,3b	40,6b	41,6b	44,6b	44,0b	38,6b	40,3b	36,3b	44,6b
	G4	28,4a	38,0a	45,4b	40,4b	43,9b	41,1b	39,9b	44,6b	43,0b	40,8b

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

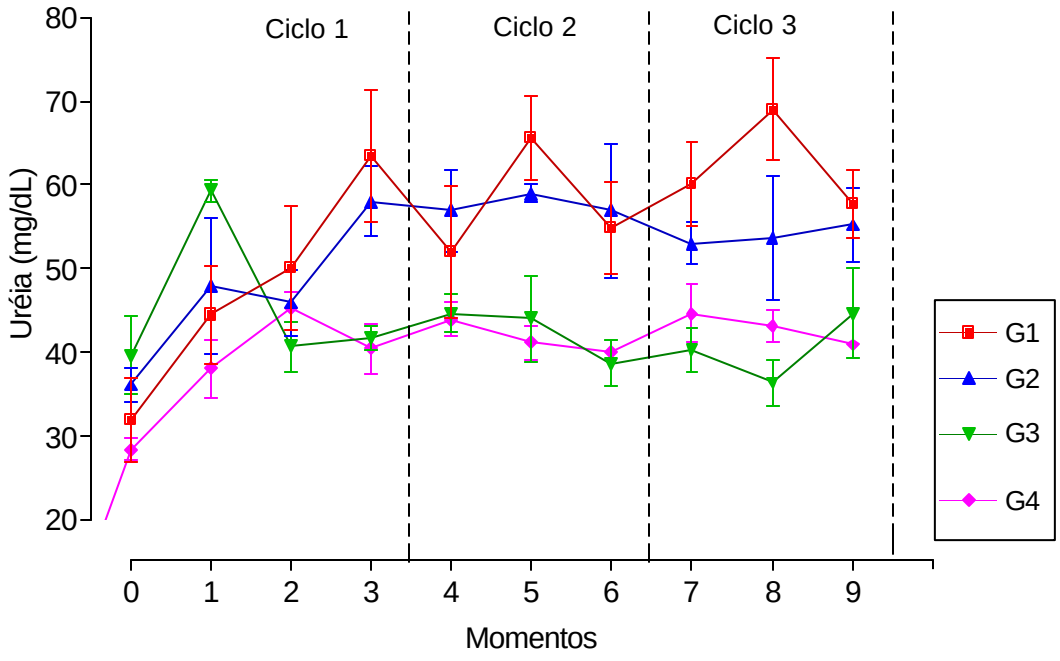


Figura 16. Valores médios e erro padrão da variável uréia (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 17. Valores médios da variável creatinina (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	0,6a	1,5a	2,2a	3,4a	2,3a	2,6a	2,5a	2,0a	2,7a	2,0a
	G2	1,0a	1,6a	3,5a	4,4a	2,6a	2,1a	2,4a	1,9a	2,1a	1,9a
	G3	1,0a	1,3a	1,2b	1,0b	1,2b	1,5b	1,2b	1,0b	1,1b	1,2b
	G4	0,8a	1,2a	1,3b	1,0b	1,3b	1,2b	1,0b	1,2b	1,0b	1,0b

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

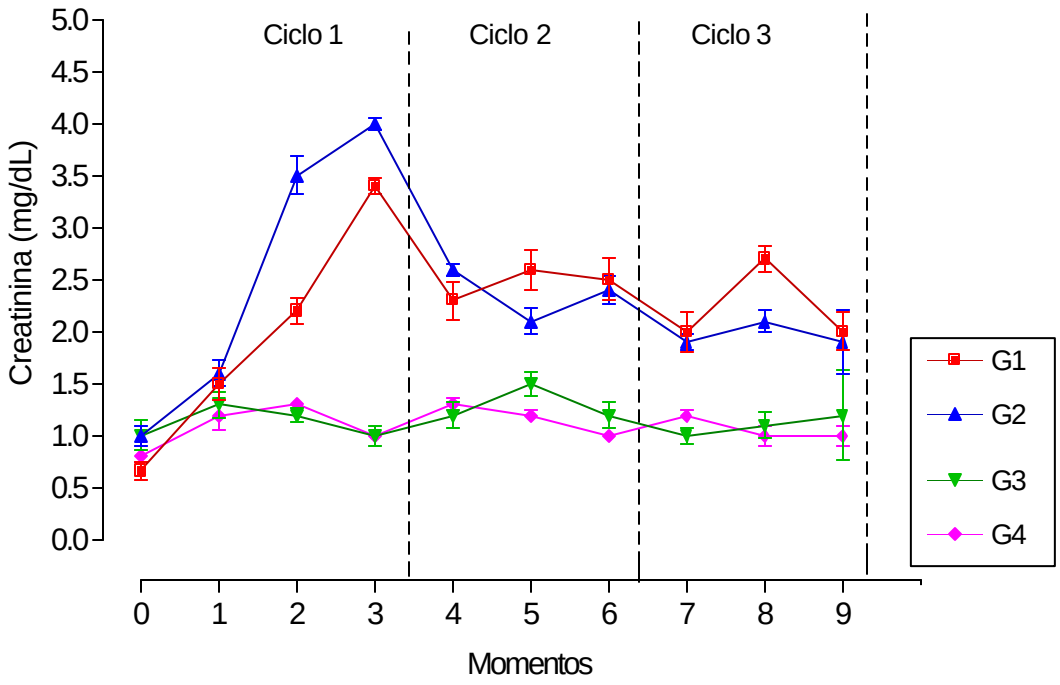


Figura 17. Valores médios e erro padrão da variável creatinina (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 18. Valores médios da variável proteínas totais (g/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	7,3	7,1	7,4	7,6	7,8	7,3	7,3	8,1	7,6	7,7
	G2	6,3	8,0	7,4	7,8	8,1	6,7	7,2	8,2	7,5	7,0
	G3	7,3	7,0	7,2	7,3	7,3	7,3	7,2	7,0	6,8	7,4
	G4	7,1	7,0	7,0	6,6	7,0	6,7	7,3	6,6	6,5	7,0

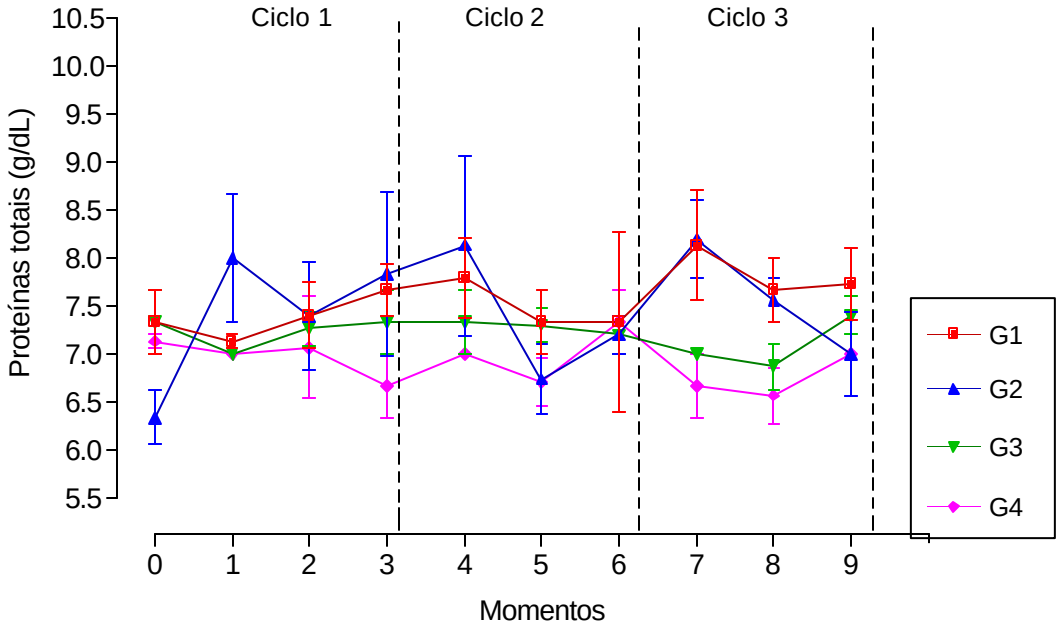


Figura 18. Valores médios e erro padrão da variável proteínas totais (g/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 19. Valores médios da variável albumina (g/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	3,0	2,6	2,4	2,5	2,7	3,2	2,7	2,8	3,0	3,0
	G2	2,9	2,5	2,9	2,7	3,0	3,5	3,2	3,5	2,8	2,6
	G3	2,8	2,9	2,9	2,5	2,3	2,6	2,5	2,2	2,5	2,8
	G4	2,9	2,8	2,9	2,9	2,9	3,0	2,6	2,6	2,7	2,8

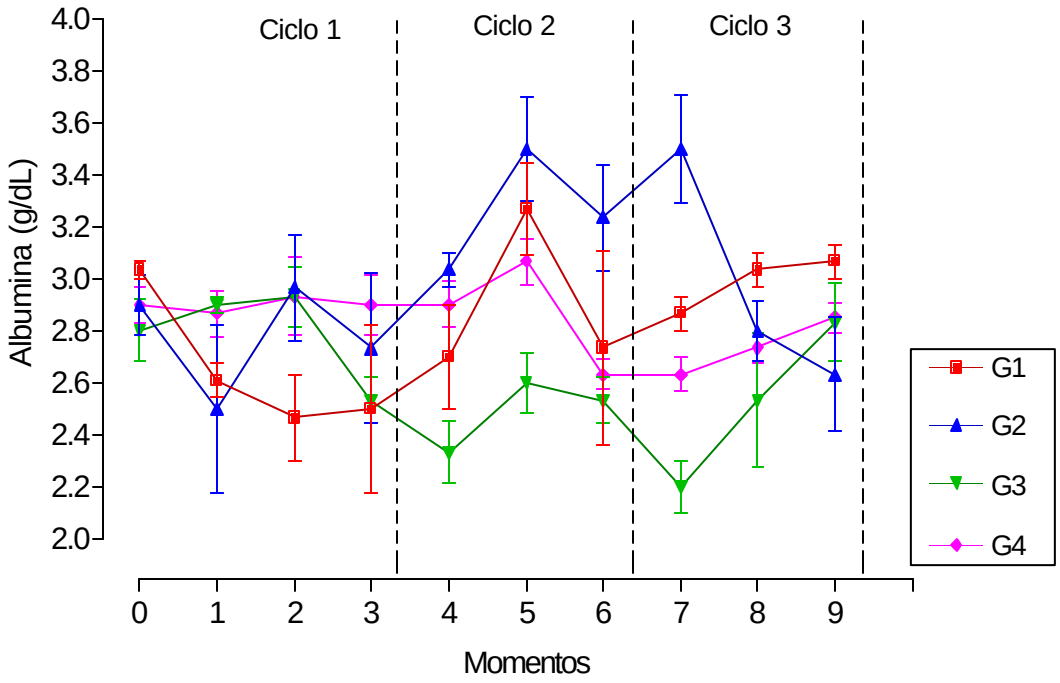


Figura 19. Valores médios e erro padrão da variável albumina (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 20. Valores médios da variável alanina aminotransferase (U/L) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	7,4a	19,6a	20,6a	22,7a	19,6a	19,8a	21,6a	21,1a	20,0a	20,4a
	G2	9,6a	21,6a	18,6a	20,0a	20,3a	18,3a	17,0b	13,9b	19,6a	13,6b
	G3	5,8a	10,0b	13,2b	8,4b	10,1b	15,6a	14,1b	6,3b	11,1b	13,9b
	G4	10,2a	22,8a	20,1a	16,7a	21,0a	17,3a	17,5b	13,8b	13,1b	14,4b

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

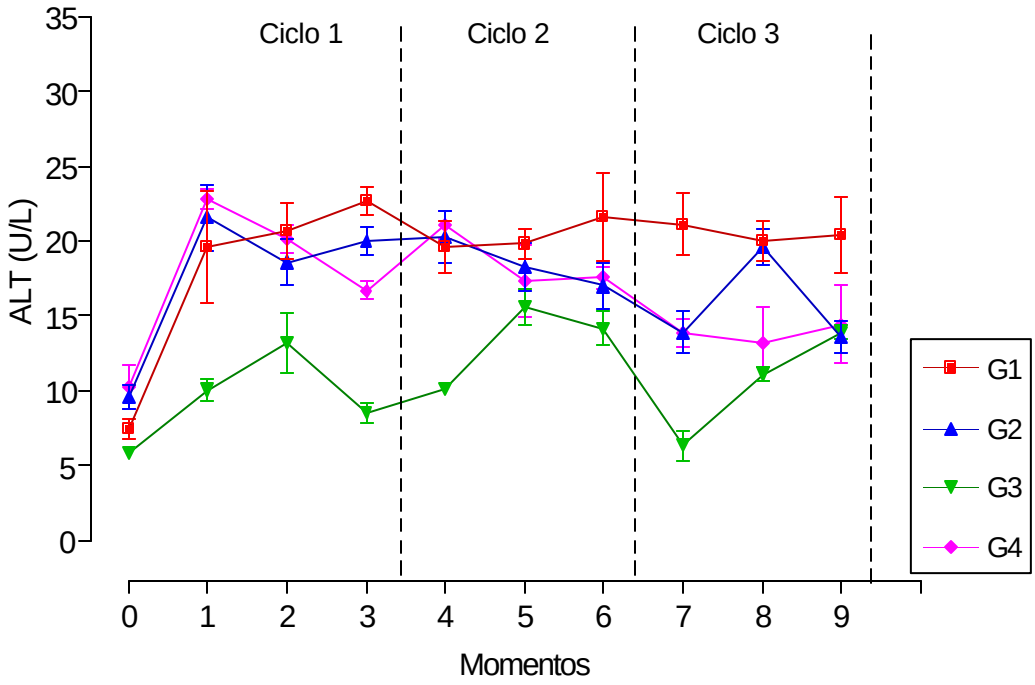


Figura 20. Valores médios e erro padrão da variável alanina aminotransferase (U/L) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 21. Valores médios da variável fosfatase alcalina (U/L) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	34,0	32,2	49,6	63,3	59,0	85,6	85,6	81,6	86,0	88,6
	G2	32,6	29,6	28,3	29,6	25,0	42,6	29,6	29,6	45,3	54,3
	G3	38,3	32,0	49,6	49,6	47,0	37,3	48,0	53,6	60,6	45,0
	G4	70,0	80,6	71,6	68,3	72,6	60,6	74,3	86,0	78,3	74,6

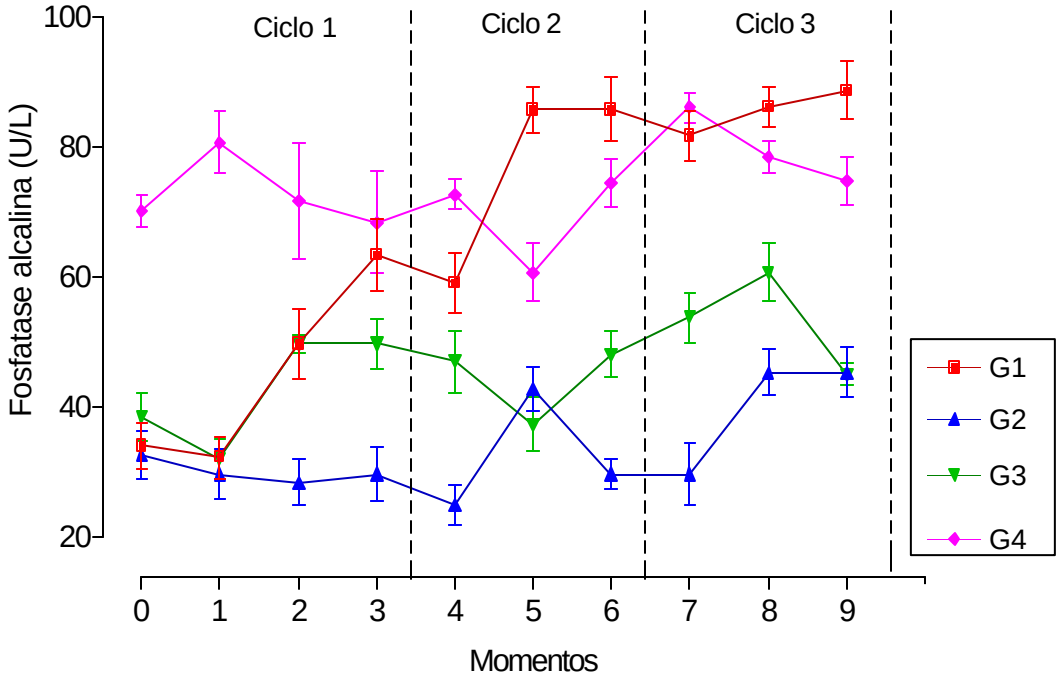


Figura 21. Valores médios e erro padrão da variável fosfatase alcalina (U/L) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 22. Valores médios da variável bilirrubina direta (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	0,09a	0,12a	0,11a	0,14a	0,12a	0,13a	0,12a	0,13a	0,11a	0,09a
	G2	0,10a	0,11a	0,11a	0,11b	0,08b	0,09b	0,09b	0,10a	0,11a	0,09a
	G3	0,08a	0,09b	0,08b	0,10b	0,10b	0,10b	0,09b	0,12a	0,09a	0,09a
	G4	0,07a	0,09b	0,10a	0,10b	0,10b	0,09b	0,10b	0,11a	0,09a	0,09a

* Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste t student

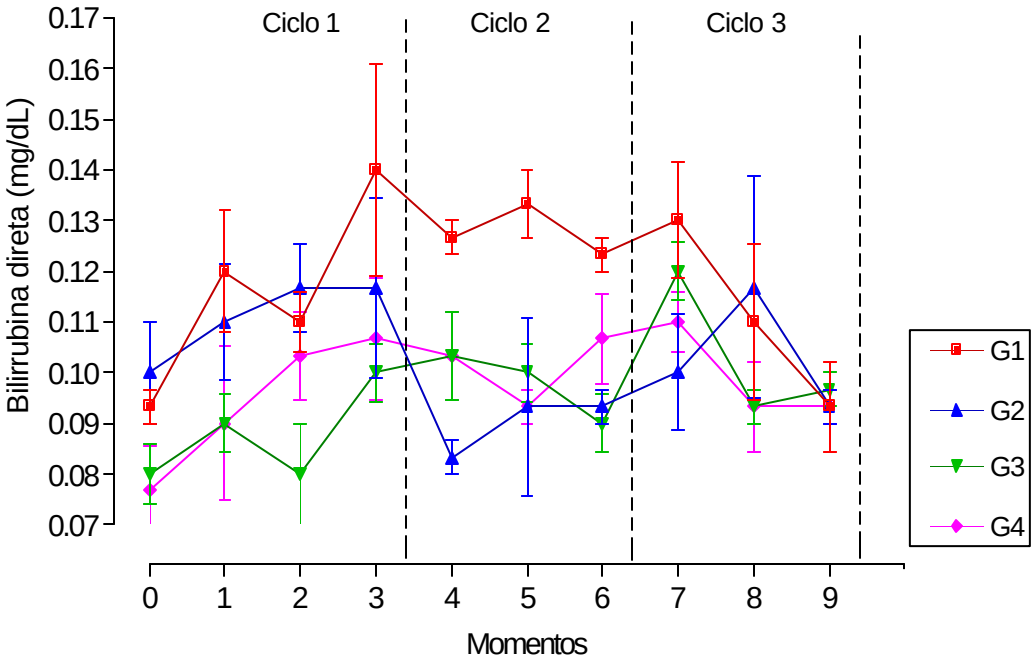


Figura 22. Valores médios e erro padrão da variável bilirrubina direta (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 23. Valores médios da variável bilirrubina total (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	0,12	0,14	0,23	0,24	0,34	0,33	0,26	0,26	0,22	0,27
	G2	0,26	0,24	0,33	0,30	0,26	0,25	0,32	0,26	0,26	0,23
	G3	0,23	0,26	0,21	0,27	0,30	0,22	0,24	0,22	0,19	0,23
	G4	0,27	0,24	0,24	0,28	0,25	0,22	0,32	0,24	0,27	0,20

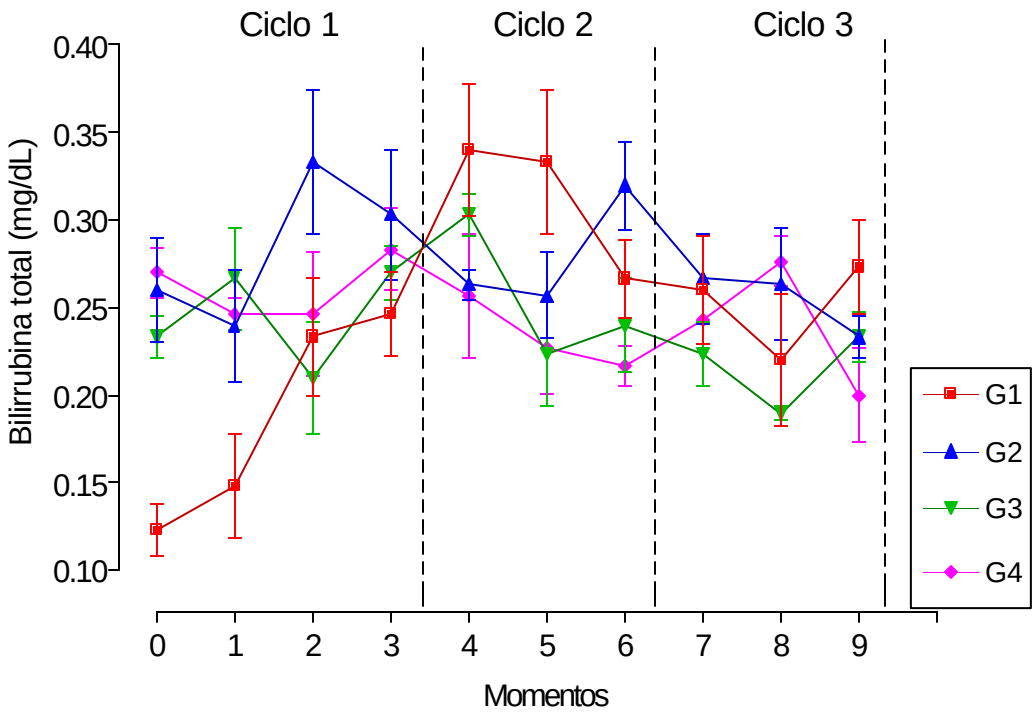


Figura 23. Valores médios e erro padrão da variável bilirrubina total (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 24. Valores médios da variável cálcio (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	9,9	9,5	9,7	10,3	9,4	10,8	11,2	10,5	10,3	10,4
	G2	9,9	9,5	10,4	10,4	10,5	10,3	10,3	10,0	10,0	9,9
	G3	9,6	10,9	10,9	11,0	10,7	11,5	11,3	11,4	10,1	10,9
	G4	10,2	11,0	10,8	10,4	10,6	10,3	10,2	10,9	10,1	10,4

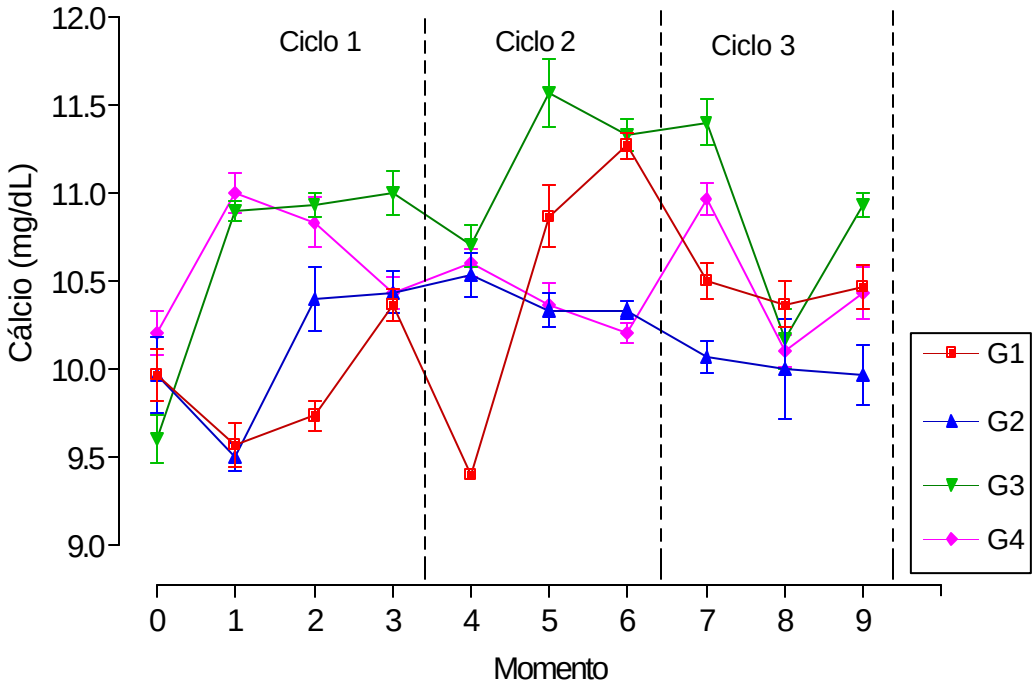


Figura 24. Valores médios e erro padrão da variável cálcio (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 25. Valores médios da variável fósforo (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	3,4	3,9	4,8	5,1	4,9	5,7	5,3	5,0	5,1	5,1
	G2	2,9	3,1	3,0	3,2	4,4	3,0	3,1	2,7	3,3	3,2
	G3	3,2	3,4	3,5	5,2	5,3	3,8	4,4	3,1	2,7	3,1
	G4	3,3	3,4	3,5	4,0	4,6	4,8	4,1	4,1	4,0	4,0

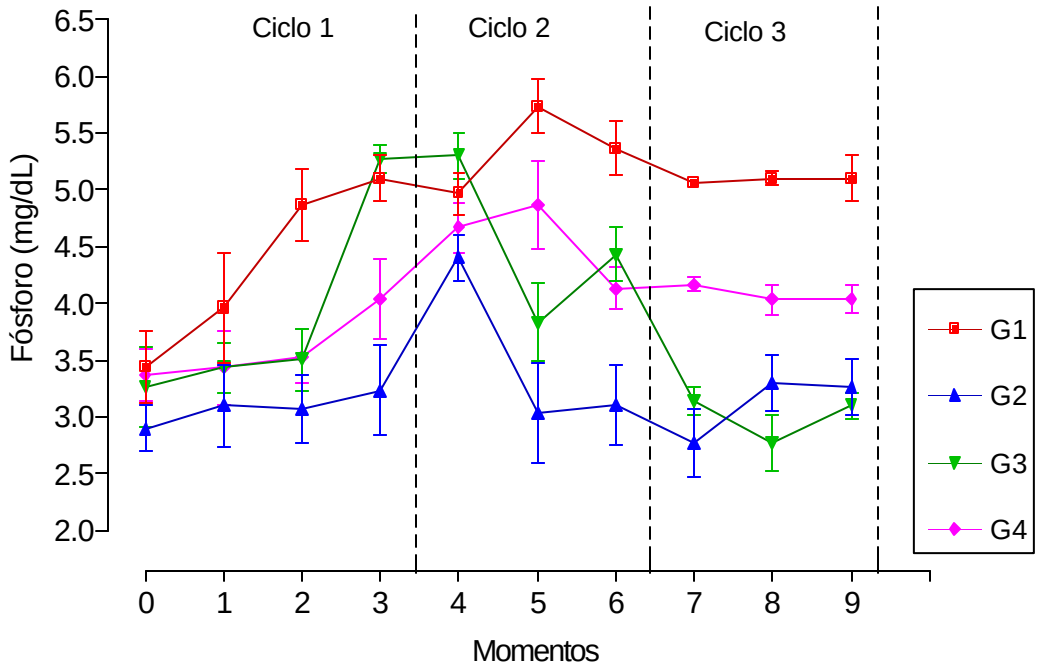


Figura 25. Valores médios e erro padrão da variável fósforo (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 26. Valores médios da variável magnésio (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	2,0	1,9	2,0	1,6	2,3	1,8	2,1	1,9	2,0	2,0
	G2	1,9	1,6	2,0	2,3	1,9	1,7	2,1	1,8	1,9	1,9
	G3	2,0	2,3	2,0	1,7	2,3	1,6	2,4	1,9	2,4	1,9
	G4	1,9	2,2	2,0	2,0	1,9	2,2	2,2	1,8	1,9	1,9

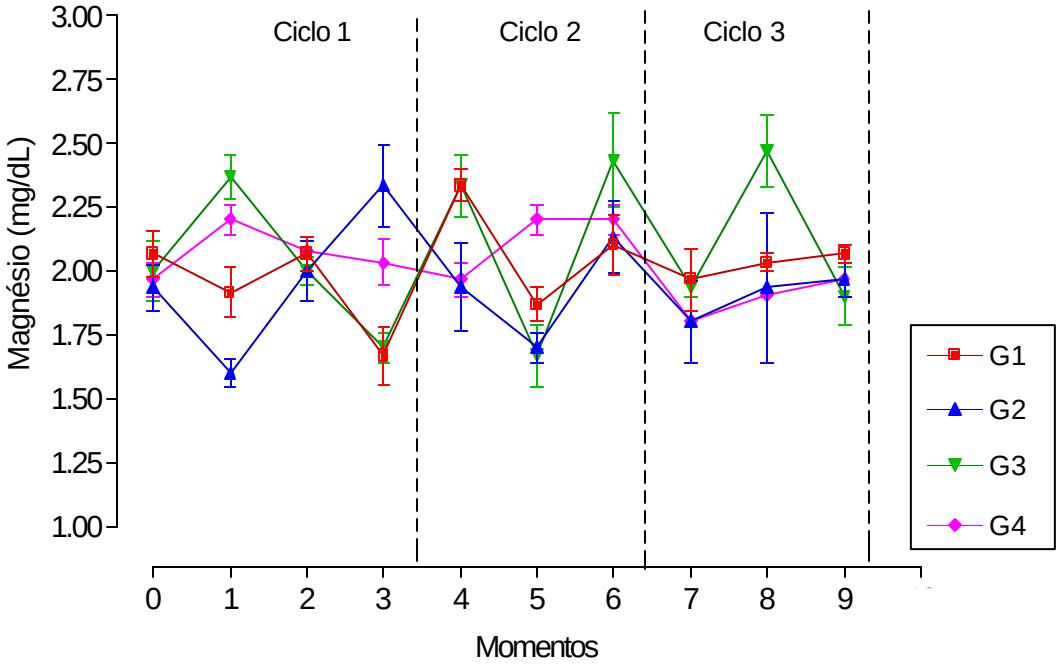


Figura 26. Valores médios e erro padrão da variável magnésio (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 27. Valores médios da variável potássio (mmol/l) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	4,6	4,8	4,7	4,5	5,5	4,5	4,8	4,9	5,7	5,6
	G2	4,4	3,9	3,9	3,5	4,8	3,8	3,9	3,9	3,7	3,5
	G3	3,7	3,9	4,1	5,5	5,4	5,1	5,2	5,4	4,6	4,2
	G4	4,3	4,7	4,7	4,6	4,7	5,2	4,9	4,2	4,6	4,5

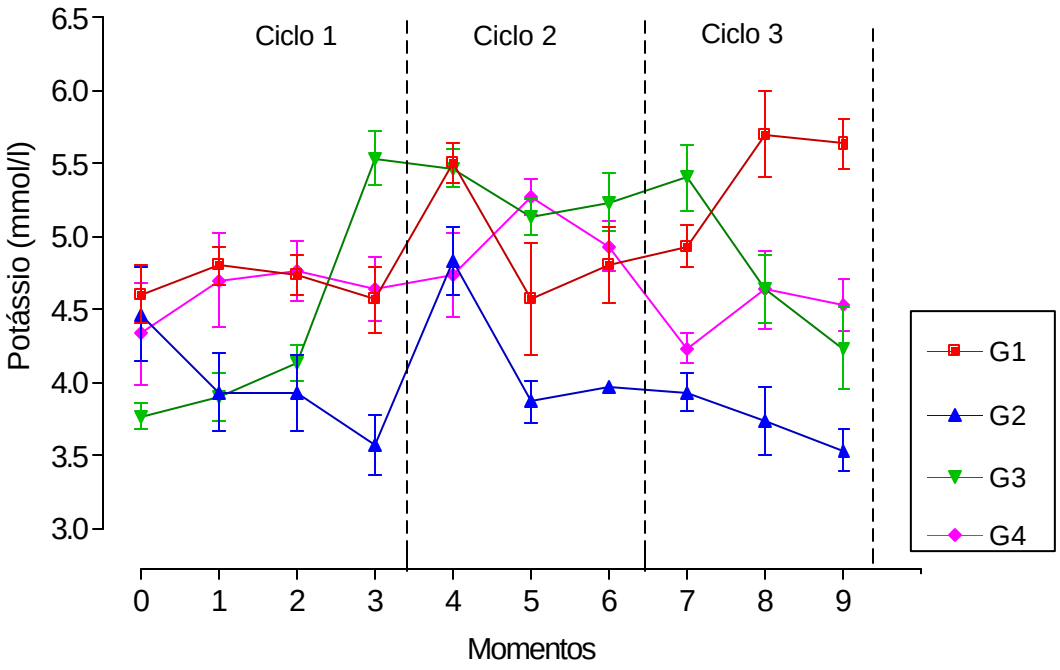


Figura 27. Valores médios e erro padrão da variável potássio (mmol/l) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.4. Glicose plasmática

Os valores médios obtidos para glicose plasmática permaneceram dentro dos valores da normalidade em todos os grupos, e não apresentaram diferenças significativas durante o período experimental (tabela e figura 28).

Tabela 28. Valores médios da variável glicose (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	96,6	102,4	92,3	93,6	92,0	94,0	101,6	100,0	94,0	91,3
	G2	91,0	91,6	88,0	89,6	98,3	101,6	86,0	109,6	91,0	92,6
	G3	94,0	102,0	97,0	102,6	93,6	97,6	97,3	99,0	92,0	94,0
	G4	96,0	93,0	97,6	90,6	95,3	93,0	92,6	93,6	93,0	93,6

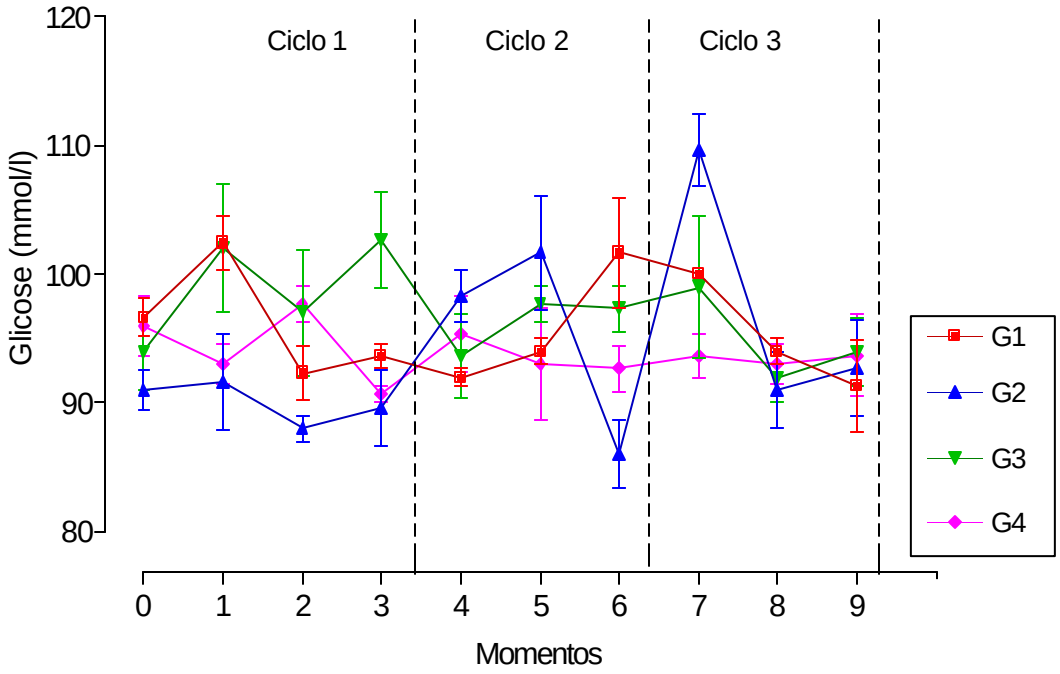


Figura 28. Valores médios e erro padrão da variável glicose (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.5. Tiroxina e 3,5,3'- triiodotironina

Os valores médios de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), para todos os grupos, permaneceram dentro dos limites da normalidade durante toda a fase experimental, e não apresentaram diferenças significativas na interação tripla (ciclo x grupo x tempo) em nenhum momento (tabelas e figuras 29 e 30).

Tabela 29. Valores médios da variável T3 (ng/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	89,3	94,2	99,6	99,3	102,1	107,5	107,3	103,6	102,5	101,3
	G2	84,0	82,5	89,1	95,0	106,6	100,6	94,3	100,0	99,7	99,8
	G3	88,0	94,6	102,2	90,5	94,2	100,6	100,6	102,6	105,5	104,0
	G4	93,3	97,0	95,5	105,5	97,9	98,3	88,9	95,9	94,3	97,6

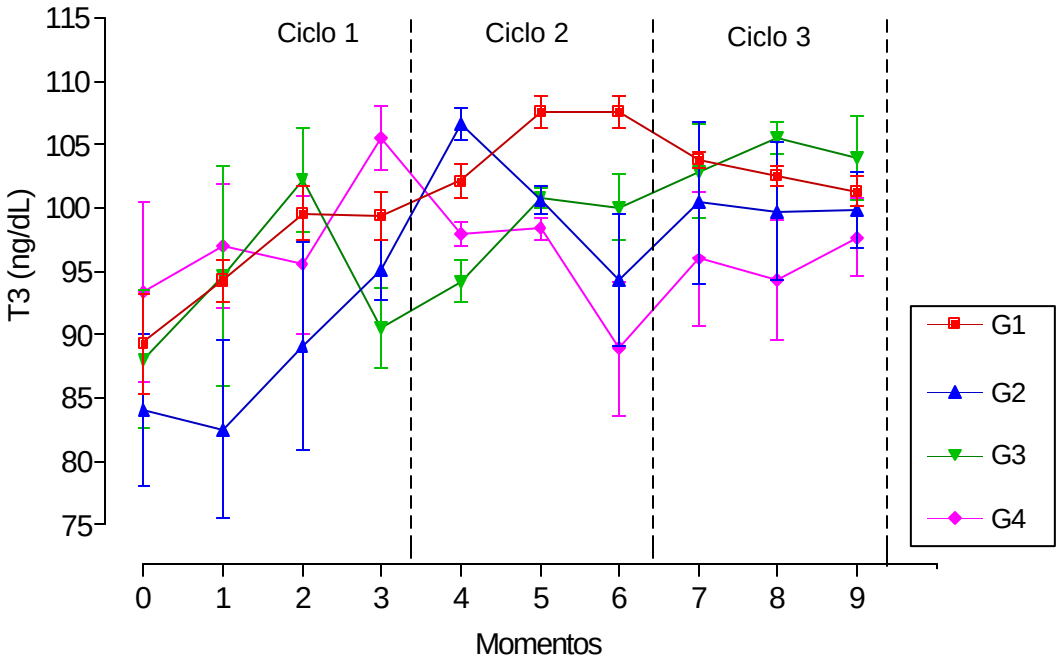


Figura 29. Valores médios e erro padrão da variável T3 (ng/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

Tabela 30. Valores médios da variável T4 (µg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

		Momentos									
		Ciclo 1				Ciclo 2			Ciclo 3		
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Médias	G1	1,5	1,7	2,1	2,4	2,7	2,5	2,7	2,7	2,7	2,7
	G2	2,6	2,9	2,5	3,0	2,7	2,7	2,6	2,5	2,7	2,6
	G3	2,5	2,8	2,8	2,8	2,7	2,5	2,7	2,7	2,4	2,7
	G4	2,5	2,5	2,6	2,4	2,3	2,4	2,4	2,6	2,5	2,7

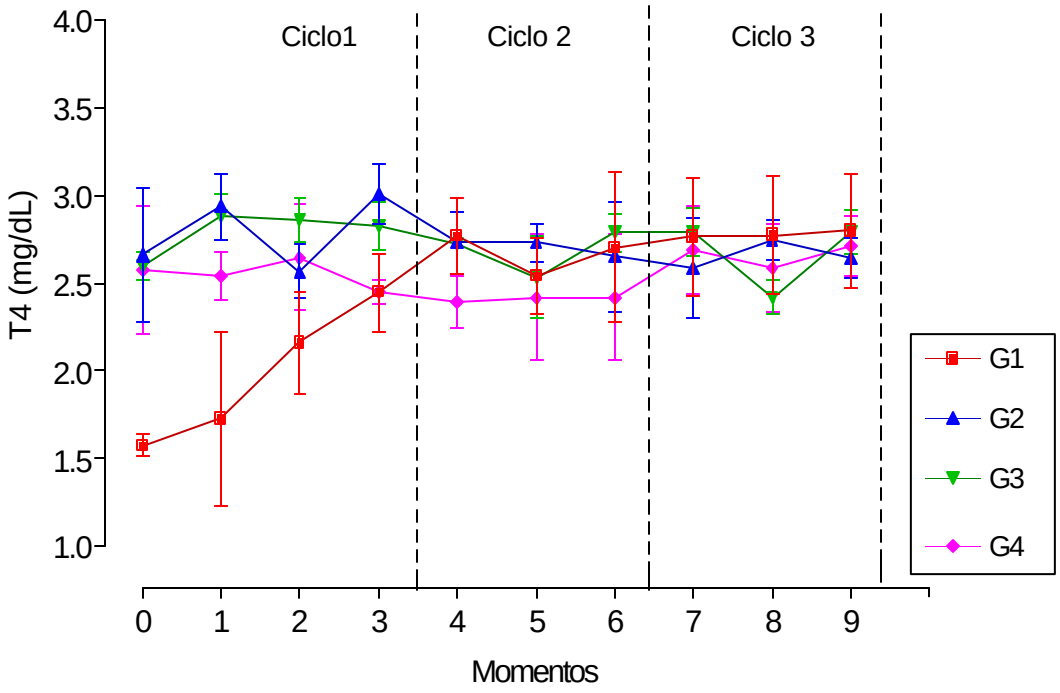


Figura 30. Valores médios e erro padrão da variável T4 (mg/dL) em cães submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia utilizando a cisplatina.

4.6. Características clínicas

Os ciclos de quimioterapia transcorreram dentro da normalidade para os animais de todos os grupos. Observou-se, em todos os animais do grupo G1, a ocorrência de episódios eméticos, após a segunda administração das cápsulas de

methimazole, o que ocorreu quatro horas após o término da quimioterapia. Somente um animal do grupo G2 apresentou emese após receber o methimazole, e nenhum animal dos demais grupos apresentou emese.

Quanto ao apetite, observou-se que os animais do grupo G1 apresentaram diminuição da ingestão de alimentos no dia seguinte aos ciclos de quimioterapia; sendo que os demais mantiveram a ingestão de ração normal ao longo de todo período experimental.

Não foram observadas quaisquer alterações relacionadas à toxicidade gastrointestinal, micção, alterações cutâneas, prostração, dispnéia e alopecia.

5. DISCUSSÃO

Apesar da cisplatina ser efetiva no tratamento de várias neoplasias em cães, sua utilização tem sido limitada, principalmente devido à sua nefrotoxicidade e ao tempo necessário para administração do quimioterápico (OGILVIE et al., 1992). Vários protocolos têm sido estudados na tentativa de minimizar tal toxicidade, incluindo o uso de baixas doses de cisplatina, administração intravenosa de fluidos antes e após a administração do quimioterápico, infusão intravenosa de cisplatina por mais de seis horas (LARUE et al., 1989; OGILVIE et al., 1991), administração de diuréticos osmóticos e a investigação de análogos não nefrotóxicos (HARDIE et al., 1991).

A dose da cisplatina, de 70mg/m^2, e o total de três ciclos com intervalo de 21 dias utilizada neste experimento, seguiram as recomendações feitas por BERG (1996), DELISLE et al. (1996) e HAHN et al. (1997). A monitoração dos animais para os padrões hematológicos, bioquímicos e urinários foi realizada semanalmente seguindo os princípios estabelecidos por O'KEEFE & HARRIS (1990) e BERG (1996), para prevenir complicações que justificassem a interrupção da quimioterapia.

A escolha dos grupos com diferentes protocolos de fluidoterapia tem importância clínica significativa, visto que o período em que o animal permanecerá

em posição desconfortável será minimizado. Desta maneira, os protocolos de quimioterapia propostos neste estudo trazem vantagens em relação ao citado por OGILVIE et al. (1991) que indicam fluidoterapia por um período de seis horas, sem notar nefrotoxicidade na maioria dos pacientes.

Com relação ao quadro hematológico dos pacientes tratados, não se observaram alterações que pudessem ser atribuídas ao uso dos protocolos utilizados. Estes dados estão em acordo com aqueles citados por O'KEEFE & HARRIS (1990), BERG (1996) e BONASSA (2000) de que a mielossupressão causada pelo uso da cisplatina é moderada e clinicamente imperceptível e de que as linhagens de células progenitoras estão protegidas dos efeitos da cisplatina porque estão na fase G0 do ciclo celular. Deste modo, estas células podem ser recrutadas a entrarem em divisão celular permitindo que a medula se recupere após a remoção do agente quimioterápico. Além disso, os danos promovidos no sistema hematopoiético não se refletem no sangue periférico, permanecendo tanto as contagens quanto a morfologia celulares dentro dos limites da normalidade.

Neste trabalho, os valores médios obtidos e seus comportamentos ao longo do tempo para os diferentes parâmetros do eritrograma, leucograma e plaquetograma, em animais submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia associada à administração da cisplatina apresentaram seus valores dentro da normalidade.

Contrariamente, OGILVIE et al. (1992) observaram diminuição significativa na contagem global de neutrófilos ao utilizarem protocolo de diurese com administração de uma hora de solução salina. De acordo com os autores, doses repetidas de cisplatina podem ter impedido a recuperação completa da medula, antes de cada ciclo de quimioterapia. HAHN et al (1997) também observaram declínio acentuado nas contagens de leucócitos totais, neutrófilos segmentados e plaquetas ao utilizarem cisplatina na dose de 20mg/m^2, em cães, uma vez por semana durante cinco semanas.

O'KEEFE & HARRIS (1990) citaram que o grau de mielossupressão pode ser influenciado pelo mecanismo de ação e pela especificidade ciclo-celular do

quimioterápico. De acordo com eles, quimioterápicos ciclo celulares não específicos, como a cisplatina, tendem a causar citopenias rápidas, discretas e com rápida recuperação. Talvez sejam estas observações citadas pelos autores, a justificativa para os nossos resultados encontrados com relação aos parâmetros hematimétricos.

A cisplatina é um antineoplásico que freqüentemente produz insuficiência renal, mas, dada a sua importância em Oncologia, é necessário que se conheçam seus efeitos renais, para que estes sirvam de base na profilaxia da insuficiência deste órgão, no sentido de se evitar que o tratamento de um paciente oncológico tenha que ser suspenso devido a esse efeito indesejável. Além disso, uma vez estabelecido o quadro de falência renal, a mortalidade dos pacientes aumenta.

Os menores valores de densidade urinária observados nos animais dos grupos G1 e G2 durante o período experimental caracterizam perda da capacidade funcional do rim em concentrar a urina. Estes dados reforçam aqueles observados por CAMPOS et al. (1992) em que a incapacidade de concentrar urina, produzida pela cisplatina, pode ser devida a efeitos tubulares da mesma e não à inibição desse fármaco sobre a ação do hormônio antidiurético no túbulo coletor.

Os resultados da urinálise obtidos para os animais submetidos a duas e três horas de fluidoterapia (G3 e G4, respectivamente) nos permitem declarar que, para estes grupos, o protocolo de quimioterapia com a cisplatina se mostrou efetivo para prevenir lesões renais sem comprometimento da função renal. A capacidade para concentrar urina foi mantida, como revelado pela densidade urinária.

A presença de proteinúria nos animais do grupo G1 e G2 indica algum grau de lesão renal, visto que, de acordo com CHEW & DIBARTOLA (1989), a maior parte das proteínas que ultrapassam o filtrado glomerular é reabsorvida pelos túbulos, explicando a ausência de proteínas no filtrado glomerular. Esta proteinúria pode ser conseqüência direta da maior permeabilidade do filtro glomerular e lesão

renal com necrose tubular (MADIAS & HARRINGTON, 1978; FJELDBORG et al., 1986).

Vários estudos em cães (MADIAS & HARRINGTON, 1978; LARUE et al., 1989; VAIL et al., 1993) indicam que a azotemia é achado indesejável após administração de cisplatina, fato este que limita sua aplicação clínica. Diante disto, torna-se prudente a monitoração dos níveis séricos de uréia e creatinina durante o período de quimioterapia com este agente.

Neste estudo, os níveis séricos de uréia e creatinina permaneceram dentro dos valores da normalidade nos animais do grupo G3 e G4, porém notou-se elevação acentuada naqueles animais do grupo G1 e G2. Estes maiores valores indicam que a cisplatina induziu nefrotoxicidade por diminuir a taxa de filtração glomerular e o fluxo sanguíneo renal e também por lesão direta nos túbulos renais conforme discutido por OGILVIE et al. (1991) e OGILVIE et al. (1992). De acordo com OGILVIE et al. (1992), a queda da taxa de filtração glomerular secundária à administração da cisplatina pode resultar de vários mecanismos, incluindo ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, que induz necrose tubular.

Os animais que apresentaram elevações nos níveis séricos de uréia e creatinina foram aqueles que não receberam fluidoterapia (G1) e aqueles que receberam somente uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina (G2). Isto nos permite discutir a presença de um metabólito da cisplatina como responsável por esta lesão renal. A cisplatina num ambiente com alta concentração de cloreto não é tóxica e torna-se capaz de atravessar a membrana celular. Quando o quimioterápico entra na célula ele se torna carregado positivamente, pois os grupos cloretos do quimioterápico são substituídos por radicais hidroxila ou água. Neste estado positivamente carregado, a cisplatina se torna citotóxica, reagindo com o DNA celular. Quando o processo de hidroxilação ocorre no meio extracelular, o potencial de nefrotoxicose aumenta, justificando a necessidade de se assegurar hidratação adequada com solução salina para manter a cisplatina numa estrutura neutra (OGILVIE et al., 1993; FORRESTER et al., 1993).

OGILVIE et al. (1993), utilizando protocolo com quatro horas de fluidoterapia associado à cisplatina, em cães, observaram aumento significativo para os valores de creatinina, apesar da ausência de mudanças significativas na concentração de uréia.

FJELDBORG et al. (1986), observando os efeitos em longo prazo da cisplatina sobre a função renal em pacientes humanos, observaram correlação direta entre os níveis séricos elevados de creatinina e a diminuição da taxa de filtração glomerular.

Outra hipótese, segundo DOBYAN et al. (1980), que tenta explicar a causa da lesão renal quando se utiliza a cisplatina é o envolvimento do segmento S3 no túbulo proximal. Segundo os supracitados autores, a cisplatina se acumula neste segmento, promovendo lesão direta nas células epiteliais que delimitam este segmento.

O mecanismo exato pelo qual a cisplatina induz nefrotoxicidade não é conhecido, entretanto é geralmente aceito que a susceptibilidade renal é principalmente atribuída à sua função na excreção do fármaco. De acordo com FORRESTER et al. (1993), a cisplatina é livremente filtrada pelo glomérulo e 60 a 70% é eliminada na urina após quatro horas da administração e se acumula no córtex renal numa concentração que é várias vezes maior que a concentração plasmática.

A inclusão, neste experimento, do methimazole ao protocolo de quimioterapia com a cisplatina se justifica pelo fato de haver um grupo de pesquisadores que acreditam que a lesão renal causada por este quimioterápico se deva à formação de radicais livres no rim (VAIL et al., 1993; ELFARRA et al., 1994; VAIL et al., 1994; OSMAN et al., 2000).

Vários estudos (VAIL et al., 1993; ELFARRA et al., 1994; VAIL et al., 1994; OSMAN et al., 2000) tem demonstrado que a associação do methimazole à quimioterapia com cisplatina promove redução dos níveis séricos dos produtos nitrogenados não protéicos e previne a ocorrência de lesões renais após doses de cisplatina conhecidas por causar lesão tubular. O mecanismo pelo qual o

methimazole reduz ou previne a doença renal causada pela cisplatina, embora não conhecido totalmente, pode ser devido ao efeito antioxidante, resultando na diminuição do estresse oxidativo que a mesma causa nos rins, como citado por ELFARRA et al. (1994) e OSMAN et al. (2000).

SAUSEN et al. (1992) relataram que o efeito protetor do methimazole, nos rins, se deve ao bloqueio da peroxidação lipídica. De acordo com VAIL et al. (1994), a presença do enxofre na estrutura molecular do methimazole, o confere ação antioxidante, restaurando as defesas celulares e bloqueando a peroxidação lipídica.

OSMAN et al. (2000), em seus estudos, verificaram que o tratamento com a cisplatina causou aumento significativo nos níveis renais de peróxidos lipídeos totais, justificando que a peroxidação das membranas lipídicas e a geração de radicais livres possam ser as responsáveis pela nefrotoxicidade do quimioterápico. Os mesmos autores administraram methimazole, a ratos, 30 minutos antes da administração da cisplatina e observaram que os níveis de uréia e creatinina séricos, e de peróxidos lipídicos no tecido renal permaneceram normais. Deste modo, demonstrando que o methimazole é eficaz na proteção contra a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina.

Neste estudo, o methimazole foi administrado, pela via oral, 30 minutos antes do início da quimioterapia e quatro horas após a administração da cisplatina como preconizado por ELFARRA et al. (1994), VAIL et al. (1994) e OSMAN et al. (2000). Entretanto, como em nosso país não existe a formulação parenteral deste fármaco, não pudemos seguir a mesma via de administração dos supracitados autores que utilizaram a via intraperitoneal.

Contrariamente às citações anteriores, neste estudo não se obteve proteção completa contra a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, utilizando o methimazole. Talvez tenha sido a via de administração utilizada, a responsável pela ineficiência do protocolo em proteger contra lesões renais, em todos os grupos experimentais. Observou-se que os animais dos grupos G1 e G2 apresentaram lesões renais graves mesmo recebendo a mesma dosagem de

methimazole que os animais dos grupos G3 e G4, que não apresentaram lesão renal. Por outro lado, os animais dos grupos G1 e G2 foram aqueles que receberam menores volumes de fluidos, o que também pode ter influenciado no aparecimento de tais lesões renais conforme citado por LARUE et al. (1989) e OGILVIE et al. (1993).

A primeira administração do methimazole antes do início da quimioterapia não provocou vômitos em nenhum dos animais, porém observou-se nos animais dos grupos G1 e em um animal do grupo G2, ocorrência de episódios eméticos após a segunda administração do fármaco. Como os animais já podiam estar apresentando náuseas em decorrência da quimioterapia adotada, pode ser que a presença do medicamento no trato gastrointestinal tenha sido o suficiente para induzir o vômito, e conseqüentemente, não obtivemos o efeito esperado.

SAUSEN et al. (1992) e VAIL et al. (1993) acrescentam que a administração de methimazole quatro horas após a administração da cisplatina não altera os efeitos terapêuticos da última, visto que a meia vida plasmática da cisplatina é de 25 a 50 minutos, sendo que é distribuída aos órgãos alvos antes da administração do methimazole.

Os resultados obtidos neste trabalho coincidem com aqueles citados por VAIL et al. (1993) e VAIL et al. (1994) segundo os quais a administração do methimazole não provoca declínio nos níveis séricos de T3 e T4. Como a glândula tireóide contém hormônio estocado no interior dos ácinos, curtos períodos de administração de methimazole não alteram os padrões dos hormônios tireoidianos.

Neste estudo, não observou-se alterações nos valores séricos da proteína total, albumina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e da billirrubina total ou direta que pudessem estar relacionadas ao efeito citostático da cisplatina no sistema hepático dos animais submetidos a diferentes protocolos de fluidoterapia com o quimioterápico. De fato, nenhum autor menciona o efeito hepatotóxico induzido pela terapia antineoplásica com a cisplatina.

Do mesmo modo, os eletrólitos cálcio, fósforo, magnésio e potássio permaneceram dentro dos valores da normalidade durante todo o período experimental. Contrariamente, HARDIE et al. (1991) verificaram que, em ratos, a cisplatina promoveu diminuição dos níveis séricos de magnésio e fosfato, atribuído a um defeito no transporte destes íons nos túbulos renais.

Os valores obtidos para glicose plasmática, em todos os grupos, também se encontraram dentro dos padrões da normalidade durante todo o período experimental, demonstrando que a quimioterapia com cisplatina não altera a glicemia dos animais.

Dentre os efeitos colaterais decorrentes da quimioterapia com cisplatina, náuseas e vômitos estão entre os mais freqüentes, além da nefrotoxicidade (HERRSTEDT, 1995). Até recentemente, a maioria dos fármacos usado no controle de náuseas e vômitos não possuía efetividade. Além do que, vários destes antieméticos quando utilizados em doses terapêuticas possuem alta incidência de efeitos colaterais.

MORROW et al. (1995) citaram que a partir de 1987, com o uso dos antagonistas de receptores 5-HT3 na profilaxia de náuseas e vômitos, observou-se melhora significativa na qualidade de vida de pacientes submetidos à quimioterapia.

Nas condições em que foi desenvolvido este experimento, o uso do ondansetron foi efetivo no controle de episódios eméticos, tanto agudos quanto tardios, dos animais dos grupos G3 e G4, sendo que estes resultados estão em acordo com aqueles citados por KÖSEOGLU et al. (1998) que consideram o ondansetron o antiemético de escolha para pacientes portadores de neoplasias recebendo quimioterapia com cisplatina.

Por outro lado, não se observou efetividade do ondansetron no controle dos episódios de emese aguda nos animais do grupo G1; o que nos permite discordar de MORROW et al. (1995) e RUDD & NAYLOR (1997), que relatam que a efetividade dos antagonistas de receptores 5-HT3 é menor para vômitos que ocorrem em longo prazo quando comparados a episódios eméticos agudos.

Porém, tem-se que levar em consideração, o fato destes animais terem recebido methimazole, pela via oral, o que pode ter contribuído para tais episódios eméticos. Além disto, estes animais não receberam fluidoterapia (G1) ou receberam somente uma hora de fluidoterapia (G2), podendo levar em consideração a importância de se realizar hidratação adequada do paciente (OGILVIE et al., 1993).

Seguindo o esquema de administração do ondansetron deste experimento, conseguiu-se controlar, em todos os grupos, os episódios eméticos em longo prazo, que se constituem num dos maiores desafios aos oncologistas clínicos, como citado por KRIS et al. (1992). Em estudo realizado por estes pesquisadores, o ondansetron foi eficiente no controle da emese em longo prazo em somente em 15% dos pacientes humanos recebendo cisplatina.

Os efeitos antieméticos do ondansetron, de acordo com RUDD & NAYLOR (1997) são atribuíveis ao bloqueio de receptores 5-HT3 nos sítios centrais na área postrema e núcleo trato solitário e também por sua ação periférica, nas fibras do nervo vago aferente no trato gastrointestinal.

Os dados obtidos neste trabalho indicam que o ondansetron é seguro e bem tolerado pelos animais, não evidenciando efeitos colaterais como aqueles citados por BRYSON (1992) de que este fármaco pode causar diarréia, e elevação transitória nas aminotransferases séricas, como alanina aminotransferase.

Um problema que não se deve negligenciar, em acordo com MALATESTA et al. (1995), é o custo do ondansetron, que é muito mais oneroso que outros antieméticos. Porém sugere-se que a melhora na qualidade de vida dos pacientes justifica o seu uso, tornando-o indispensável na prática médica veterinária.

6. CONCLUSÕES

Diante das condições experimentais em que foi desenvolvido este estudo, pode-se concluir que:

1. A administração da cisplatina associada ao methimazole e ao ondansetron, nos diferentes protocolos de fluidoterapia, não altera significativamente os parâmetros do eritrograma, leucograma e plaquetograma;

2. A cisplatina pode ser usada com segurança em animais sem doença renal prévia, associando-se ondansetron e methimazole a um protocolo de uma hora de fluidoterapia antes da cisplatina e uma hora após ou a um protocolo de duas horas de fluidoterapia antes da cisplatina e uma hora após;

3. O methimazole, administrado pela via oral, é seguro para prevenção da nefrotoxicidade induzida pela cisplatina utilizando um protocolo de duas ou três horas de fluidoterapia;

4. O ondansetron é um antiemético seguro na prevenção da emese em longo prazo induzida pela cisplatina;

5. Com os protocolos utilizados não ocorreram alterações da função hepática que pudessem ser atribuídas à ação hepatotóxica da cisplatina;

6. O methimazole não causa diminuição nos níveis séricos dos hormônios tireoidianos, quando utilizado seguindo o protocolo de administração deste ensaio;

7. Maiores estudos devem ser conduzidos, utilizando a via parenteral de administração do methimazole para verificar seus efeitos de proteção renal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERG, J. Canine osteosarcoma: amputation and chemotherapy. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.26, n.1, p.111-21, jan.1996.

BERRY, W. R.; et al. Results of a compassionate-use program using intravenous ondansetron to prevent nausea and vomiting in patients receiving emetogenic cancer chemotherapy. **Seminars in Oncology,** v.19, n.6, suppl.15, p.33-7, 1992.

BONASSA, E.M.A. Conceitos gerais em quimioterapia antineoplásica. IN: **Enfermagem em quimioterapia**, São Paulo: Editora Atheneu, p.3-20, 2000.

BORCH, R.F.; MARKMAN, M. Biochemical modulation of cisplatin toxicity. **Pharmacology and Theriogenology**, v.41, p.371-380, 1989.

BOSCH, F.X.; COLEMAN, M.P. Epidemiologia descritiva. IN: HOSSFELD, D.K., et al. **Manual de oncologia clínica,** 2.ed. Genebra: Verlag, 1997, p.32-43.

BRAUNLICH, H.; APPENROTH, D.; FLECK, C. Protective effects of methimazole against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Journal Applied of Toxicology**. v.17, n.1, p.41-5, jan.1997.

BRYSON, J.C. Clinical safety of ondansetron. **Seminars in Oncology**, v.19, n.6, p.26-32, dec.1992.

CAMPOS, S.B.; et al. Efeito imediato da cisplatina sobre a função renal de cães. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.14, n.1, p.17-22, mar.1992.

CARNEIRO, P.C.A.; CASTRO, O.F.; BERTOLAZZO, W. Aspectos farmacológicos da cisplatina. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.7, n.3, p.112-117, 1992.

CHEW, D.J.; DIBARTOLA, S.P. Diagnosis and pathophysiology of renal disease. In: ETTINGER, S.J. **Textbook of veterinary internal medicine**. 3.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1989. p.1900-4.

COPPOC, G. L. Quimioterapia das doenças neoplásicas. In: BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica veterinária**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 693-706.

CUNNINGHAM, R. S. 5-HT3-receptor antagonists: a review of pharmacology and clinical efficacy. **Oncology Nursing Forum**. v.24, n.7, p.33-40, 1997.

DAGLI, M.L Z. Agentes antineoplásicos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1999, p.495-509.

DELISLE, F.; DEVAUCHELLE, P.; DOLIGER, S. Cancérologie – le cisplatine. **Le Point Veterinaire**, v.28, n.175, p.69-71, 1996.

DEMULDER, P. H. M.; et al. Ondansetron compared with high-dose metoclopramide in prophilaxis of acute and delayed cisplatin-induced nausea and vomiting: a multicenter , randomized, doubleblind, crossover study. **Annais of Internal Medicine**. v. 113, p. 834-40, 1990.

DOBYAN, D. C.; LEVI, J.; JACOBS, C.; et al. Mechanisms of *cis*-platinum nephrotoxicity: II. morphologic observations. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v.213, n.3, p.551-6, 1980.

ECKHARDT, S.; BORDEN, E.C. Terapias sistêmicas. IN: HOSSFELD, D.K., SHERMAN, C.D.; LOVE, R.R.; BOSCH, F.X. **Manual de oncologia clínica***,* 2.ed. Genebra: Verlag, 1997, p.125-141.

ELFARRA, A. A.; et al. Methimazole protection of rats against gentamicin-induced nephrotoxicity. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology***.* v.72, p.1238-44, 1994.

FJELDBORG, P.; SORENSEN, J.; HELKJER, P.E. The long-term effect of cisplatin on renal function. **Cancer**. v.58, p.2214-7, nov.1986.

FORRESTER, S. D.; et al. Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicosis in dogs, using hypertonic saline solution as the vehicle of administration. **American Journal Veterinary Research***.* v.54, n.12, p.2175-8, dec.1993.

GIGER, U. Oncologic emergencies in small animals. part I. chemotherapy-related and hematologic emergencies. **Compendium of Continuing Education***.* v.6, p.689, 1984.

GRUNBERG, S.M.; HESKETH, P.J. Control of chemotherapy-induced emesis. **The New England Journal of Medicine***,* v.329, n.24, p.1790-1796, dec.1993.

HAHN, K.A.; et al. Hematologic changes associated with weekly low-dose cisplatin administration in dogs. **Veterinary Clinics Pathology***,* v.26, n.1, p.29-31, 1997.

HAINSWORTH, J. D. The use of ondansetron in patients receiving multiple-day cisplatin regimens. **Seminars in Oncology.** v. 19, n.4, suppl 10, p.48-52, 1992.

HANNEMANN, J.; BAUMANN, K. Cisplatin-induced lipid peroxidation and decrease of gluconeogenesis in rat kidney cortex: different effect of antioxidant and radical scavengers. **Toxicology.** v.51, n.2-3, p.119-32, 1988.

HARDIE, E. M.; et al. Effect of time of cisplatin administration on its toxicity and pharmacokinetics in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.52, n.11, p.1821-5, nov.1991.

HERRSTEDT, J. Development of antiemetic therapy in cancer patients. **Acta Oncologica**. v.34, n.5, p.637-40, 1995.

HOAGLAND, H. C. Hematologic complications of cancer chemotherapy. IN: PERRY, M. C.; YARBRO, J. W. **Toxicity of chemotherapy**. Orlando: Grune & Stratton, 1984, p. 433-48.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology. Comparative hemathology of common domestic animals**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 19-70.

KISSEBERTH, W. C.; MacEWEN, E. G. Complications of cancer and its treatment. In: WITHROW, S. J.; MacEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 2ed.: Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. p. 70-86.

KOHLER, D. R.; GOLDSPIEL, B. R. Ondansetron: a serotonin receptor (5-HT3) antagonist for antineoplastic chemotherapy-induced nausea and vomiting. **DICP**. v.25, n.4, p.367-80, 1991.

KÖSEOGLU, V.; et al. Comparison of the efficacy and side effects of ondansetron and metoclopramide-diphenhydramine administered to control nausea and vomiting in children treated with antineoplastic chemotherapy: a prospective randomized study. **European Journal of Pediatrics.** v.157, p.806-10, 1998.

KRIS, M. G.; et al. Incidence, course, and severity of delayed nausea and vomiting following the administration of high-dose cisplatin. **Journal Clinical Oncology**. v.3, p. 1379-84, 1985.

KRIS, M. G.; et al. Oral ondansetron for the control of delayed emesis after cisplatin. **Cancer**. v.70, p.1012-6, aug.1992.

LARUE, S. M.; et al. Limb-sparing treatment for osteosarcoma in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.195, p.173-4, 1989.

LIEBERTHAL, W.; TRIACA, V.; LEVINE, J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis *vs* necrosis. **American Journal of Physiology.** v.240, p.700-8, 1996.

LICHTER, I. Nausea and vomiting in patients with cancer. **Hematology/Oncology Clinics of North America**. v.10, n.1, p.207-20, feb.1996.

LINDLEY, C.; BLOWER, P. Oral serotonin type 3-receptor antagonists for prevention of chemotherapy-induced emesis. **American Journal Health-System Pharmacology**, v.57, p.1685-1688, sep.2000.

LITTERST, C. L. Alterations in the toxicity of cisplatina-dichlorodiammineplatinum as function of NaCl concentration in vehicle of administration. **Toxicology Applied of Pharmacology**. v.61, p.99-108, 1981.

LOVE, R.R. História Natural do Câncer Humano. IN: HOSSFELD, D.K., SHERMAN, C.D.; LOVE, R.R.; BOSCH, F.X. **Manual de oncologia clínica**, 2.ed., Genebra: Verlag, 1997. p.21-31.

MADIAS, N. E.; HARRINGTON, J. T. Platinum nephrotoxicity. **The American Journal of Medicine**. v.65, p.307-13, aug.1978.

MAVICHALE, U.; et al. Studies on the pathogenesis of cisplatin-induced hypomagnesaemia. **Kidneys**. v.28, p.914-21, 1985.

MALATESTA, M.F.D.; et al. Ondansetron in chemotherapy-induced emesis. **European Journal of Gynecology and Oncology.** v.16, n.2, p.97-106, 1995.

MILNE, R. J.; HEEL, R. C. Ondansetron. Therapeutic use as an antiemetic. **Drugs**. v.41, n.4, p.574-95, 1991.

MORROW, G. R.; HICKOK, J. T.; ROSENTHAL, S. N. Progress in reducing nausea and emesis. **Cancer**. v.76,n.3, p.343-57, aug.1995.

OGILVIE, G. K.; et al. Prevalence of nephrotoxicosis associated with a short term saline solution diuresis protocol for the administration of cisplatin to dogs with malignant tumors: 61 cases (1987- 1989). **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.199, n.5, p.613-6, sep.1991.

OGILVIE, G. K.; et al. Evaluation of one hour saline diuresis protocol for administration of cisplatin to dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.23, n.9, p.1666-9, sep.1992.

OGILVIE, G. K.; et al.: Prevalence of nephrotoxicosis associated with a four-hour saline diuresis protocol for the administration of cisplatin to dogs with naturally developing neoplasms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. vol. 202, n.11, p.1845-8, jun.1993.

OGILVIE, G. K.; MOORE, A. S. **Managing the veterinary cancer patient**. New Jersey : Veterinary Learning Systems Company, 1995. 541p.

OGILVIE, G. K. Chemotherapy. In: WITHROW, S. J.; MacEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology.** 2.ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1996. p. 70-86.

O'KEEFE, D. A.; HARRIS, C. L. Toxicology of oncologic drugs. **Veterinary Clinics of Norht America: Small Animal Practice**. v.20, n.2, p.483-504, mar.1990.

OSMAN, A. M. et al. Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by methimazole. **Pharmacological Research,** v.41, n.1, p.115-21, 2000.

OZOLS, R. F. High-dose cisplatin in hypertonic saline. **Annals of Internal Medicine.** v.100, p.19-24, 1984.

PAGE, R. L.; et al. Cisplatin, a new antineoplastic drug in veterinary medicine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. vol.186, n.3, p.288-90, 1985.

PEREZ, E. A.; GANDARA, D. R. Advances in the control of chemotherapy-induced emesis. **Annals of Oncology**. v.3, suppl 3, p.47-50, 1992.

RICHARDSON, J. L.; MARKS, G.; LEVINE, A. The influence of symptoms of disease and side effects of treatment on compliance with cancer chemotherapy. **Journal of Clinical Oncology**. v.6, p.1746-52, 1988.

ROILA, F.; et al.. Ondansetron. **European Journal of Cancer**. v.29, suppl.1, p.16-21, 1993.

ROILA, F.; et al. 5-HT3 receptor antagonists: differences and similarities. **European Journal of Cancer***,* v.33, n.9, p.1364-1370, 1997.

ROSENBERG, B.; CAMP, L. V.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. **Nature.** v.205, p.698-9, 1965.

ROSENBERG, B.; et al. Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. **Nature***.* v.222, n.385, p.385-6, 1969.

ROZENCWEIG, M. et al. Cis-diamminedichloroplatinum (II) – a new anticancer drug. **Annals of Internal Medicine***,* v.86, p.803-812, 1977.

RUDD, J. A.; NAYLOR, R. J. the actions of ondansetron and dexamethasone to antagonize cisplatin-induced emesis in the ferret. **European Journal of Pharmacology***,* v.322, p.79-82, 1997.

SAFIRSTEIN, R.; MILLER, P.; GUTTENPLAN, J. B. Uptake and metabolism of cisplatin by rat kidney. **Kidney International***.* v.25, p.753-8, 1984.

SAUSEN, P. J.; ELFARRA, A. A.; COOLEY, A .J. Methimazole protection of rats against chemically induced kidney damage in vivo. **J. Pharmacology. Exp. Ther.** v*.260,* n.1, p.393-401, 1992.

SCHALM, O. W.; JAIN, N.C.; CARROLL, E. J. **Veterinary hematology***.* 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1975.

SCHAEPPI, U.; et al. Cisplatina-dichlorodiammineplatinum (II) (NSC-119875): preclinical toxicologic evaluation of intravenous injection in dogs, monkeys, and mice. **Toxicology Applied Pharmacology***.* v.25, p.230, 1973.

SOBRAL, R.A.; DALECK, C.R.; MELO, W.J. Estudo *in vivo* de um sistema de liberação de drogas constituído por hidroxiapatita e cisplatina. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.16, n.3, jul-sep.2001.

SODIKOFF, C.H. **Laboratory profiles of small animal disease – a guide to laboratory diagnosis**. 2 ed. St Louis: Mosby, 1995, 435p.

TANIHATA,S.; et al. Cisplatin-indued early and delayed emesis in the pigeon. **British Journal of Pharmacology**. v.130, p.132-8, 2000.

TSAVARIS, N.; et al. Efficacy of ondansetron treatment with different timing schedules: a randomized double-blind study. **Oncology,** v.52, p.315-318, 1995.

TYERS, M. B.; BUNCE, K. T.; HUMPHREY, P. P. Pharmacological and anti-emetic properties of ondansetron. **European Journal of Cancer Clinical Oncology,** v.25, suppl 1, p.15-9, 1989.

TYERS, M. B. Pharmacology and preclinical antiemetics properties of ondansetron. **Seminars in Oncology,** v.19, n.4, suppl. 10, p.1-8, 1992.

VAIL, D. N.; et al. Methimazole as a protectant against cisplatin-induced nephrotoxicity using the dog as a model. **Cancer Chemother. Pharmacol**. v.33, n.1, p.25-30, 1993.

VAIL, D. M.; et al. Pharmakinetics and short-term clinicopathologic changes after intravenous administration of a high dose of methimazole in dogs. **American Journal Veterinary Research**. v.55, n.11, p.1597-601, nov.1994.

WOOD, A.J.J. Control of chemotherapy-induced emesis. **The New England Journal of Medicine.** v.329, n.24, p.1790-6, 1993.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis.** 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999, 663p.

8. APÊNDICE

8.1.Sistema Colorimétrico para Dosagem de Creatinina Sérica

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Tampão (n° 2)	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
Amostra	--	0,25 ml	--
Água destilada	0,25 ml	--	--
Padrão (n° 3)	--	--	0,25 ml
Ácido pícrico (n° 4)	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Misturar e colocar em banho-maria a 37°C durante 10 minutos. O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 510nm, acertando o zero com o branco.

A absorbância do teste será A_1.

Acidificante (n° 4)	0,1 ml	0,1 ml	--

Misturar e deixar na temperatura ambiente durante cinco minutos. Determinar a absorbância do teste em 510nm, acertando o zero com o branco.

A absorbância do teste será A_2.

Cálculos:

Creatinina (mg/dl) = ($A_1 - A_2$) x Fator de calibração

$$\text{Fator de calibração} = \frac{4}{\text{Absorbância do padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.2.Sistema Colorimétrico para Dosagem da Uréia Sérica

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Amostra	--	0,01ml	--
Padrão (n° 4)	--	--	0,01ml
Urease tamponada	1,0ml	1,0ml	1,0ml

Misturar e incubar a 37°C durante cinco minutos.

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Oxidante de uso	1,0ml	1,0ml	1,0ml

Misturar e incubar a 37°C durante cinco minutos. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 600nm acertando o zero com o branco.

Cálculos:

Uréia (mg/dl) = absorbância do teste x fator de calibração

$$\text{Fator de calibração} = \frac{70}{\text{Absorbância do padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.3.Sistema Colorimétrico para Dosagem da Albumina Sérica

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Reagente de cor (n° 1)	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Soro	--	0,01 ml	--
Padrão (n° 2)	--	--	0,01 ml

Misturar e após dois minutos, no máximo 10 minutos, determinar as absorbâncias do teste a padrão em 630 nm, acertando o zero com o branco.

Cálculos:

Albumina (g/dl) = Absorbância do teste x Fator de calibração

$$\text{Fator de calibração} = \frac{3,8}{\text{Absorbância do padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.4. Sistema Colorimétrico para Dosagem da Fosfatase Alcalina Sérica

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Substrato (n° 1)	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml
Tampão (n° 2)	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Padrão (n° 4)	--	--	0,05 ml

Colocar em banho-maria a 37°C durante dois minutos. O nível de água do banho deve superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

Amostra	--	0,05 ml	--

Misturar e incubar em banho-maria a 37°C durante 10 minutos.

Reagente de cor (n° 3)	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Misturar e determinar as absorbâncas do teste e padrão em 590 nm, acertando o zero com o branco. A cor é estável por 120 minutos.

Cálculos:

Fosfatase Alcalina = Absorbância do Teste x Fator de calibração

$$\text{Fator de calibração} = \frac{45}{\text{Absorbância do padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.5. Sistema Colorimétrico para Dosagem da Glicose Plasmática

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Amostra	--	0,01 ml	--
Padrão (n°2)	--	--	0,01 ml
Reagente (n° 1)	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Misturar vagarosamente e colocar em banho-maria a 37°C durante 15 minutos. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 505 nm, acertando o zero com o branco. A cor é estável por 60 minutos.

Cálculos:

Glicose (mg/dl) = Absorbância do teste x Fator de Calibração

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{100}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.6. Sistema Colorimétrico para Dosagem do Magnésio Sérico

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Reagente de uso	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
Amostra	--	0,02 ml	--
Padrão (n° 3)	--	--	0,02 ml

Misturar, esperar dois minutos e determinar as absorbâncias do teste e padrão em 505 nm, acertando o zero com o branco. A cor é estável por 30 minutos.

Cálculos:

Magnésio (mg/dl) = Absorbância do Teste x Fator de Calibração

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{2}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.7. Sistema Colorimétrico para Dosagem do Fósforo Sérico

Tomar três tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Água destilada	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Amostra	--	0,1 ml	--
Padrão (n°4)	--	--	0,1 ml
Catalisador (n° 1)	1 gota	1 gota	1 gota

Misturar.

Reagente de Molibdato (n° 2)	1 gota	1 gota	1 gota

Agitar fortemente (nesta fase ocorre turvação). Colocar em banho de água fria (20-25°C) durante três minutos.

Tampão (n° 3)	2 gotas	2 gotas	2 gotas

Agitar fortemente e colocar em banho de água fria (20-25°C) durante cinco minutos. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 650 nm, acertando o zero com o branco. A cor é estável por 15 minutos.

Cálculos:

Fósforo (mg/dl) = Absorbância do teste x Fator de Calibração

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{5}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.8. Sistema Colorimétrico para Dosagem do Cálcio Sérico

Tomar duas cubetas do fotômetro, rotular “teste” e “padrão” e proceder como a seguir:

	Teste	**Padrão**
Reagente de trabalho	1,0 ml	1,0 ml

Colocar o fotômetro em 570 nm.

Tomar a cubeta “teste” e acertar o zero do aparelho. Em seguida, sem movimentr os controles do aparelho, adicionar 0,02 ml da amostra nesta cubeta. Misturar bem a determinar a absorbância (A_{teste}).

Tomar a cubeta “padrão”e acertar o zero do aparelho. Em seguida, sem movimentar os controles do aparelho, adicionar 0,02 ml de padrão nesta cubeta. Misturar bem e determinar a absorbância ($A_{padrão}$).

Cálculos:

Cálcio (mg/dl) = Absorbância do Teste x Fator de Calibração

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{10}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.9. Sistema Colorimétrico para Dosagem do Potássio Sérico

Identificar três tubos e proceder como a seguir:

	Branco	**Teste**	**Padrão**
Reagente de uso	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
Padrão	--	--	200 µl
Sobrenadante	--	200 µl	--

Homogeinizar até se obter uma suspensão homogênea. Deixa repousar durante cinco minutos à temperatura de 20-30°C. homogeinizar novamente. Ler as absorbâncias em espectrofotômetro em 580 nm, acertando o zero com o tubo branco.

Cálculos:

Potássio (mmol/l) = Absorbância do Teste x Fator de Calibração

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{5}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.10. Sistema Colorimétrico para Dosagem de Bilirrubina Direta e Total

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Direta	Total
Água destilada	4,5ml	4,5ml	-
Acelerador (n.1)	-	-	4,5ml
Ácido sulfanílico (n.2)	0,5ml	-	-
Diazo reagente	-	0,5ml	0,5ml
Soro ou plasma	0,3ml	0,3ml	0,3ml

Misturar e esperar 5 minutos. Determinar as absorbâncias das bilirrubinas direta e total em 525nm ou filtro verde (500 a 540), acertando o zero com o branco. A cor é estável por 30 minutos.

Obter os valores em mg/dl para as bilirrubinas direta e total utilizando o fator de calibração Macro obtido com o padrão de bilirrubina.

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.11. Sistema Colorimétrico para Dosagem de Proteínas Totais

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-	0,1ml	-
Padrão (n.2)	-	-	0,1ml
Água destilada	0,1ml	-	-
Biureto de uso	5,0ml	5,0ml	5,0ml

Misturar e esperar 15 minutos. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 545nm ou filtro verde (510 a 550), acertando o zero com o branco. A cor é estável por 3 horas.

Cálculos:

$$G/dl = \frac{\text{absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 4$$

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.12. Sistema Colorimétrico para Dosagem de Alanino Aminotransferase

Tomar 5 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

Tubos nº.	1	2	3	4	5
Padrão (nº.4)	-	0,1ml	0,2ml	0,3ml	0,4ml
TGP substrato	1,0ml	0,9ml	0,8ml	0,7ml	0,6ml
Água destilada	0,2ml	0,2ml	0,2ml	0,2ml	0,2ml
Reagente de cor	1,0ml	1,0ml	1,0ml	1,0ml	1,0ml

Misturar e deixar na temperatura ambiente por 20 minutos.

NaOH de uso	10,0ml	10,0ml	10,0ml	10,0ml	10,0ml

Misturar e deixar na temperatura ambiente 5 minutos. Determinar as absorbâncias em 505nm ou filtro verde (490 a 540), acertando o zero com água destilada. A cor é estável por 60 minutos.

- Instruções fornecidas pela LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., Lagoa Santa – Brasil.

8.13. Protocolo Radioimunoensaio (RIE) em Fase Sólida. T3 total (triiodotironina)

Preparação inicial:

1. Tubos de polipropileno revestidos com anticorpos anti-T3.

2. Buffer (I^{125}) T3 : pronto para uso.

3. Calibradores: prontos para uso.

4. Todos os componentes do "kit" deverão estar em temperatura ambiente antes do uso

Metodologia:

Calibradores	ng/ml
A (MB)	0
B	20
C	50
D	100
E	200
F	600

1. Marcar 4 tubos 12 x 75 mm contagem total e 4 tubos NSB (ligação não específica). Marcar 12 tubos T3 fase sólida: A (máxima ligação) e de B a F em duplicatas. Marcar também em duplicatas para as amostras e controles.

2. Pipetar 100µl do calibrador zero (A) dentro dos tubos NSB e A. Pipetar 100µl dos demais calibradores de B a G, amostras e controles.

3. Pipetar 1,0 ml do buffer (I^{125}) T3 em todos os tubos. Agitar.

4. Incubar por 2 horas a 37 °C .

5. Decantar totalmente, exceto o tubo T (total).

6. Contar cada tubo por 1 minuto em contador gama.

- Instruções fornecidas pela DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION, Los Angeles –USA

8.14. Protocolo Radioimunoensaio (RIE) em Fase Sólida. T4 - Tiroxina

Preparação inicial:

1. Tubos de polipropileno revestidos com anticorpos anti-T4

2. Buffer (I^{125}) T4: pronto para uso.

3. Calibradores: fornecidos prontos para uso.

4. Todos os componentes do "kit" devem estar em temperatura ambiente antes do uso.

Metodologia:

Calibradores	µg/dl
A (MB)	0
B	1
C	4
D	10
E	16
F	24

1. Marcar 4 tubos 12 x 75 mm não fase sólida contagem total e 4 tubos NSB (ligação não específica). Marcar 12 tubos T4 Fase Sólida: A (máxima ligação)

e de B a F duplicatas. Marcar também em duplicatas para as amostras e controles.

2. Pipetar 25µl do calibrador zero (A) dentro dos tubos NSB e A. Pipetar 25µl dos demais calibradores de B a F, as amostras e controles.

3. Pipetar 1,0 ml de (I^{125}) T4 em todos os tubos. Agitar.

4. Incubar por 60 minutos a 37°C.

5. Decantar totalmente, exceto o tubo T (total).

6. Contar cada tubo por 1 minuto em contador gama.

- Instruções fornecidas pela DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION, Los Angeles -USA