

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:
CIÊNCIAS MÉDICAS

**Alterações neurocomportamentais induzidas por agentes
antineoplásicos: efeitos da administração aguda da
cisplatina sobre a memória aversiva em ratos**

Silvia Ramos Hecktheuer

Orientador: Prof. Dr. Rafael Roesler

Dissertação de Mestrado

2009

Silvia Ramos Hecktheuer

**Alterações neurocomportamentais induzidas por agentes
antineoplásicos: efeitos da administração aguda da
cisplatina sobre a memória aversiva em ratos**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, sob orientação do Prof. Dr. Rafael Roesler.

2009

H448a Hecktheuer, Silvia Ramos

Alterações neurocomportamentais induzidas por agentes antineoplásicos : efeitos da administração aguda da cisplatina sobre a memória aversiva em ratos / Silvia Ramos Hecktheuer ; orient. Rafael Roesler. – 2009.

59 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Manifestações neurocomportamentais 2. Antineoplásicos
3. Memória 4. Modelos animais de doenças 5. Ratos 6.
Cisplatino I. Roesler, Rafael II. Título.

NLM: WL 340

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Rafael Roesler, excelente pesquisador, estudioso e afetivo, agradeço pela inserção na pesquisa experimental e pela orientação recebida.

Ao prof. e colega Ediovani Gaboardi,
pelo exemplo de dedicação e seriedade na vida acadêmica.

Aos pesquisadores do Laboratório de Pesquisa em Câncer do HCPA,
em especial a Gustavo Reolon, Natasha Maurmann,
Pedro Liedke e Bruno Kliopp
pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos e familiares,
que são as pessoas com as quais passamos os melhores momentos da vida
e recebemos apoio nos mais difíceis.

Aos meus pais,
pelos valores transmitidos.

À minha filha Ana,
pela alegria e responsabilidade que traz à minha existência.

Ao meu esposo,
pela amizade, amor e companheirismo,
e por ter sido um estímulo
para a conclusão desde e de outros projetos em minha vida.

A Deus, pela existência.

Ao meu esposo Canzi e à minha filha Ana,
valores reais e perenes em meu viver.

Aos pacientes,
importante estímulo ao meu saber.

A memória é a consciência inserida no tempo.

Fernando Pessoa

RESUMO

O objetivo geral desta pesquisa foi estudar os efeitos neurocomportamentais associados à administração de agentes antineoplásicos. Mais especificamente, investigamos os possíveis efeitos da cisplatina sobre a memória aversiva em ratos, medidos através das tarefas da esQUIVA INIBITÓRIA. Diversos estudos associam à ação dos quimioterápicos as disfunções cognitivas constatadas em pacientes submetidos a tratamentos antineoplásicos. Cogita-se que eles teriam a capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica e estariam relacionados ao aumento do estresse oxidativo e dos níveis de citocinas. Além disso, fatores como deficiências no reparo do DNA, encurtamento dos telômeros, disfunções nos mecanismos de restauração neural e de liberação de neurotransmissores e a diminuição nos níveis de estrógeno e testosterona podem potencializar seus efeitos sobre a cognição. Em modelos animais, embora não haja unanimidade, há a indicação da existência de efeitos cognitivos, que aparecem na maioria das vezes em curto prazo e são reversíveis, e que variam de acordo com a dose utilizada. Além disso, os estudos começam a indicar que os quimioterápicos agem sobre funções cognitivas específicas. Em relação à cisplatina, estudos neurofisiológicos sugerem que ela pode influenciar a nocicepção, aumentar a excitabilidade dos neurônios de ampla faixa dinâmica da medula espinhal, diminuir a condução nervosa e afetar os neurônios do gânglio da raiz dorsal. No experimento realizado, foram administradas três doses de cisplatina (0,1, 0,3 e 1 mg/Kg i.p.) em ratos Wistar machos adultos, que em seguida realizaram a habituação em campo aberto. Uma semana depois, foram treinados na tarefa de esQUIVA INIBITÓRIA e testados 24h e uma semana após. Os resultados mostram que a cisplatina não afetou o comportamento dos ratos em campo aberto, mas induziu um aumento de desempenho na tarefa da esQUIVA INIBITÓRIA, medido uma semana após o treino, o que leva à conclusão de que essa droga pode induzir uma facilitação da memória de longo prazo.

Palavras-chave: Cisplatina; Quimioterapia; Memória; Função cognitiva; Ratos.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Pesquisas sobre os efeitos dos quimioterápicos sobre a cognição em humanos....	23
Quadro 2 - Funções cognitivas e regiões cerebrais afetadas pela quimioterapia.	25
Quadro 3 - Prováveis mecanismos para mudanças cognitivas induzidas pela quimioterapia..	29
Quadro 4 - Pesquisas sobre os efeitos cognitivos dos quimioterápicos em modelos animais..	35
Quadro 5 - Pesquisas sobre os efeitos neurotóxicos da cisplatina em modelos animais.....	38

LISTA DE SIGLAS

5-FU: 5-Fluorouracil.

AFD: Neurônios da Ampla faixa dinâmica.

BDNF: Fator neurotrófico cerebral.

BHE: Barreira hematoencefálica.

B-W: Black-White.

C: Grupo controle.

CFM: Ciclofosfamida.

CMF: Ciclofosfamida, Metotrexate, 5-Fluorouracil.

COMT: Catecol-O-metiltransferase.

CP: Cisplatina.

CPCP: Carcinoma de pequenas células de pulmão.

CTC: Ciclofosfamida, Tiotepa, Carboplatina.

DNMTS: Delayed-Matching-To-Sample.

DRG: Gânglio da Raiz Dorsal.

DX: Doxorrubicina.

EI: Esquiva Inibitória.

EORTC QLQ: European Organization for Research and Treatment of Cancer, Quality of Life Questionnaire.

FACT-ES: Functional Assessment of Cancer Therapy Endocrine Symptoms.

FACT-F: Functional Assessment of Cancer Therapy for Fatigue.

FACT-G: Functional Assessment of Cancer Therapy-General.

FEC: 5-Fluorouracil, Epidoxorrubicina, Ciclofosfamida.

GT: Grupo tratado.

HSCL-25: Hopkins Symptom Check List-25.

HSCS: High Sensitivity Cognitive Screen.

LTP: Potenciação de longo termo.

MTX: Metotrexate.

MWM: Morris Water Maze

NMTS: Non-Matching-To-Sample.

P-300: Potencial evocado cognitivo.

POMS: Profile of Mood States.

QT: Quimioterapia.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Pesquisas em humanos utilizando avaliações neuropsicológicas	14
2.2 Possíveis mecanismos que induzem alterações cognitivas na quimioterapia	24
2.3 Pesquisas utilizando modelos animais	29
2.4 Pesquisas sobre o efeito da cisplatina sobre a cognição em animais	36
2.5 Memória aversiva e esquia inibitória	38
3 OBJETIVOS	42
3.1 Geral	42
3.2 Específicos	42
4 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA	43
5 ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS	47
6 CONSIDERAÇÕES GERAIS	57

1 INTRODUÇÃO

A melhora geral na qualidade de vida da população, que pode ser verificada desde a revolução industrial, tem permitido que os indivíduos vivam cada vez mais tempo, o que implica um envelhecimento cada vez maior das populações. Conseqüentemente, as enfermidades que acometem os indivíduos na terceira idade se tornam cada vez mais prevalentes.

O câncer é uma dessas doenças, e muitos esforços têm sido despendidos na tentativa de preveni-lo, de tratá-lo e de minimizar suas seqüelas. Na medida em que os tratamentos para o câncer evoluem, torna-se necessário, levar em consideração todos os seus efeitos, já que há a tendência de aumento na expectativa de vida das pessoas que se recuperam após o tratamento. Busca-se, assim, não apenas fazer com que a pessoa sobreviva ao câncer, mas tenha uma boa qualidade de vida, sendo capaz de manter-se ativa no trabalho, na vida social e familiar e em todas as demais dimensões.

Em vista disso, a manutenção da integridade das funções cognitivas torna-se também uma preocupação no cuidado do paciente sob tratamento quimioterápico. Essas funções abrangem memória, raciocínio, atenção, aprendizado, imaginação, linguagem, cálculo e habilidades espaço-visuais ⁽¹⁾ e são fundamentais para a relação do indivíduo consigo mesmo e com o meio que o cerca. Ivan Izquierdo ⁽²⁾ enfatiza o papel das funções cognitivas, especificamente da memória, para o ser humano da seguinte forma: “Nossa forma de pensar, de agir, de planejar e de realizar o futuro depende estritamente daquilo que sabemos, ou seja, daquilo que lembramos. Aquilo que nunca aprendemos, ou aquilo que esquecemos não nos pertence.”

Essa preocupação relacionada aos efeitos dos quimioterápicos sobre a cognição começa a ganhar espaço na década de 1970. Nessa época foram feitas as primeiras observações em que se associou quimioterapia a déficit cognitivo. Entretanto, esse tema só começou a ser estudado sistematicamente na década de 1990. Meyers et al. ⁽³⁾ foram os primeiros a propor uma investigação que tentasse verificar a relação entre quimioterapia e déficit cognitivo, já que na época se considerava estes efeitos resultados da radioterapia, mas não dos quimioterápicos. Entretanto, seus resultados foram negativos, isto é, para eles a quimioterapia não pode ser tomada como causa da diminuição do desempenho cognitivo constatado em pacientes com câncer.

Essa posição, contudo, não foi sustentada pelas pesquisas posteriores. Como será apresentado a seguir, diversos estudos reforçam a hipótese de que há uma deterioração cognitiva associada à quimioterapia.

No desenvolvimento dessas pesquisas, diversos problemas e abordagens novas foram aparecendo. De modo geral, as pesquisas se concentraram principalmente em pacientes com câncer de mama submetidos a regimes quimioterápicos. Diversos objetivos foram buscados. Tentou-se verificar se os efeitos dos quimioterápicos são reversíveis em longo prazo. Buscou-se estabelecer, com alguma precisão, a dosagem a partir da qual aparecem os problemas cognitivos. Diferentes quimioterápicos foram testados, no objetivo de identificar aqueles que seriam responsáveis isoladamente pelos sintomas apresentados. Inseriram-se diferentes metodologias para avaliar o desempenho cognitivo, envolvendo domínios e habilidades diversos. Fatores como estresse, ansiedade, fadiga, qualidade de vida, dentre outros, também foram incluídos em algumas abordagens. A grande maioria dos trabalhos apresentou um desenho transversal, com algumas poucas tentativas de abordagens prospectivas e longitudinais. Alguns estudos usaram como grupo controle indivíduos saudáveis, enquanto outros, pacientes com câncer que não haviam recebido tratamento quimioterápico.

Embora essas pesquisas sustentem, de maneira geral, a hipótese de que a quimioterapia está associada a déficits cognitivos, não são capazes de identificar exatamente a causa desses sintomas. Isso se deve à própria complexidade dos regimes quimioterápicos e à conseqüente dificuldade em isolar todos os fatores envolvidos ⁽⁴⁾. Além disso, em humanos é mais difícil conseguir amostras significativas de pacientes, garantir um acompanhamento rigoroso durante toda a pesquisa e isolar fatores fisiológicos, psicológicos, patológicos, demográficos e culturais relevantes nos resultados ⁽⁵⁾. Em especial, é difícil isolar os efeitos cognitivos causados por depressão ou pelo próprio câncer, o uso de diferentes regimes quimioterápicos dificulta a identificação de substâncias específicas, além de os testes psicológicos em humanos terem uma padronização mais difícil ⁽⁶⁾.

Devido a essas e a outras circunstâncias apresentadas a seguir na revisão de literatura, as pesquisas sobre os efeitos cognitivos dos quimioterápicos buscaram utilizar também modelos animais. Modelos animais são experimentos desenvolvidos em uma espécie com o objetivo de compreender determinado fenômeno que ocorre em outra espécie, especialmente a humana ⁽⁷⁾. Nestes, é possível um controle maior dos indivíduos pesquisados, no que se refere tanto a problemas físicos quanto a fatores de ordem psicológica. Além disso, pode-se selecionar com maior precisão o regime quimioterápico a ser administrado (doses, tipo de quimioterápico, tempo etc.).

Os estudos com modelos animais iniciaram em 2006 e até o momento não foram realizados em grande número. Algumas pesquisas se concentraram nos efeitos agudos, outras nos efeitos crônicos da administração de quimioterápicos. Em alguns estudos, foram acompanhados também outros efeitos sistêmicos, como perda de peso, de pêlos, crescimento de dentes etc. Algumas vezes foram realizadas análises histológicas, especialmente da região do hipocampo. Foram realizadas pesquisas utilizando drogas isoladas ou em associações, em diferentes doses e intervalos de tempo. Várias tarefas foram realizadas, procurando identificar o déficit que cada quimioterápico estaria ocasionando sobre a cognição e a correlata região cerebral envolvida. A grande maioria revela piora no desempenho cognitivo dos ratos submetidos ao tratamento quimioterápico, enquanto um estudo ⁽⁶⁾ demonstrou melhora, como será apresentado com mais detalhe na revisão de literatura. Em alguns estudos aparecem já indícios de que determinados quimioterápicos agem sobre regiões específicas do sistema nervoso.

Algumas pesquisas utilizando métodos de neuroimagem, como ressonância nuclear magnética e tomografia computadorizada com emissão de pósitrons, e estudos genéticos indicaram alguns possíveis mecanismos que podem explicar a ação dos quimioterápicos sobre a função e estrutura cerebral. Foram identificados mecanismos para a ação dos quimioterápicos, tais como: a) fatores genéticos que aumentam as possibilidades de os quimioterápicos ultrapassarem a barreira hematoencefálica, diminuem a capacidade de reparo neural e de metabolismo de neurotransmissores, b) estresse oxidativo associado a danos no DNA e ao encurtamento dos telômeros, c) respostas inflamatórias mediadas pelas citocinas, e d) diminuição dos níveis de estrógeno e testosterona. Mas uma indicação conclusiva de quais seriam os mecanismos ainda não foi alcançada.

Neste estudo, busca-se avaliar se um quimioterápico específico, a cisplatina, tem efeito sobre uma função cognitiva, a memória aversiva. Utilizar-se-á nessa investigação o modelo da esQUIVA INIBITÓRIA (EI). A tarefa de EI é um modelo de medo condicionado bem estabelecido para avaliação de efeitos de tratamentos farmacológicos sobre a função cognitiva em roedores. O rato aprende a permanecer em uma plataforma para evitar um choque elétrico nas patas. O grau de consolidação da memória é determinado medindo a latência, ou seja, o tempo que o rato demora para descer da plataforma.

A seguir, apresentar-se-á uma revisão da literatura existente sobre os efeitos dos quimioterápicos sobre a cognição. Serão sintetizados os resultados de pesquisas com seres humanos e alguns mecanismos relacionados aos efeitos dos quimioterápicos sobre a função cognitiva serão abordados. Em seguida, apresentar-se-ão as pesquisas que abordam o tema utilizando modelos animais, e será dada especial atenção àqueles estudos que avaliam os efeitos da

cisplatina. Por fim, algumas informações relevantes para caracterizar o experimento desenvolvido neste estudo serão apresentadas, tais como o conceito de memória e sua classificação e uma breve introdução ao modelo animal utilizado aqui, a esquiva inibitória.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pesquisas em humanos utilizando avaliações neuropsicológicas

Em trabalho desenvolvido em 1994 mas publicado em 1995, Meyers et al. ⁽³⁾ fizeram uma das primeiras propostas de pesquisa em que se buscou verificar a associação entre déficits cognitivos e quimioterapia. Os autores partiram da constatação, cogitada na época, de que pacientes com carcinoma de pequenas células de pulmão (CPCP) apresentavam também déficits cognitivos. A novidade da proposta era verificar se esse déficit teria como causa a quimioterapia associada à radioterapia local. Além disso, muitos atribuíam o déficit cognitivo nos pacientes com CPCP aos efeitos tardios da radiação craniana profilática, que é utilizada como parte do tratamento para reduzir o risco de metástases cerebrais.

Para isso, foram avaliados dois grupos de pacientes: um que havia recebido recentemente o diagnóstico mas não havia sido tratado, e outro que havia recebido já quimioterapia associada à radioterapia, mas não a radiação craniana profilática, evitando assim seus possíveis efeitos sobre a cognição. Foram avaliados 46 pacientes no total, 21 sem tratamento e 25 tratados. O grupo tratado recebeu uma combinação dos seguintes quimioterápicos: cisplatina, ciclofosfamida e etoposide. Todos os pacientes foram submetidos à bateria de testes neuropsicológicos tradicionais envolvendo 6 domínios: intelectual (Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised), visal-perceptivo (Trail Making Test Part A), função executiva do lobo frontal (Trail Making Test Part B e Wisconsin Card Sorting Test), linguagem (Controlled Oral Word Association), memória (Verbal Selective Reminding e Benton Visual Retention Test) e destreza motora (Grip Strength e Grooved Pegboard).

Os testes demonstraram que, em ambos os grupos, 70 a 80% dos pacientes com CPCP apresentaram déficit de memória, mais do que 38% tiveram déficit na função executiva do lobo frontal e aproximadamente um terço apresentaram diminuição da coordenação motora, quando comparados aos níveis normais. Entretanto, comparados entre si os grupos não apresentaram diferenças significativas em todos os testes neuropsicológicos. Isso levou os autores à seguinte afirmação: “Os efeitos da quimioterapia não parecem ser o fator etiológico, já que os pacientes com CPCP apresentaram déficit cognitivo antes do tratamento. Embora a quimioterapia possa potencialmente exacerbar esses déficits, ela não parece ser a causa.” ⁽³⁾

No ano seguinte, em 1995 na Califórnia (USA), outro grupo de pesquisa desenvolveu um trabalho que aparentemente chega a um resultado oposto. Wieneke e Dienst⁽⁸⁾ avaliaram 28 pacientes em estágio I e II de câncer de mama, entre 28 e 54 anos. Os pacientes haviam sido submetidos à quimioterapia adjuvante durante um período de 3 a 18 meses. Os testes iniciaram após um período de 15 dias a 12 meses do término do tratamento. Foram considerados os efeitos do regime de drogas, da duração do tratamento e do nível de depressão sobre a função cognitiva. Os pacientes foram submetidos a testes neuropsicológicos tradicionais.

Os resultados mostraram que 75% dos pacientes apresentaram diminuição cognitiva em um ou mais testes quando comparados aos índices normais. Além disso, tais conclusões não foram relacionadas à depressão, ao tipo de quimioterapia, ao tempo após o tratamento, mas apenas à duração do regime quimioterápico. A partir desses primeiros achados, os autores deram uma indicação forte de que a quimioterapia pode trazer efeitos importantes sobre o desempenho cognitivo. Isso abriu o caminho para uma nova série de pesquisas.

Van Dam et al.⁽⁹⁾, em 1998 na Holanda, propuseram um estudo para avaliar a prevalência de distúrbios cognitivos em pacientes oncológicos submetidos a tratamento quimioterápico, comparando-os a pacientes com diagnóstico de câncer de mama no estágio I, que não recebem terapia adjuvante sistêmica. Os outros pacientes submetidos à quimioterapia seriam divididos randomicamente em dois grupos. Um deles receberia alta dose de quimioterápico, enquanto o outro a dose standard, ambas associadas com tamoxifeno. Assim, foram formados três grupos. O primeiro composto por 34 pacientes tratados com altas doses de quimioterápico mais tamoxifeno. O segundo, com 36 pacientes tratados com a dose standard mais tamoxifeno. E o terceiro formado por 34 pacientes em estágio I de câncer de mama não tratados com terapia adjuvante sistêmica, que seria o grupo controle.

O objetivo foi avaliar se altas doses de quimioterápico afetam em maior grau as funções cognitivas do que a dose standard. A função cognitiva foi avaliada com a bateria tradicional de testes neuropsicológicos. Além disso, fatores como estado de saúde, qualidade de vida, ansiedade e depressão também foram considerados, utilizando os seguintes testes: um questionário semi-estruturado sobre sintomas psicopatológicos, o EORTC QLQ-C30, desenvolvido pela European Organization for Research and Treatment of Cancer, e o HSCL-25, aplicável para detectar sintomas de depressão e ansiedade em pacientes com câncer.

Foi encontrada uma diminuição cognitiva em 32% dos pacientes do primeiro grupo (alta dose), 17% do segundo grupo (dose standard) e 9% do grupo controle. Pacientes tratados com altas doses de quimioterápico tem 8,2 vezes mais chance de sofrer diminuição cognitiva em comparação com o grupo controle. No caso do grupo que recebeu a dose standard, esse

risco diminui para 3.5 vezes. Os autores indicam que os efeitos nocivos das altas doses de quimioterápico poderiam ser devidos à toxicidade no sistema nervoso central. Em função desses dados, o estudo conclui que altas doses parecem estar associadas a um elevado índice de diminuição cognitiva, o que sugere que se privilegie a dose standard sempre que possível e que se façam estudos mais avançados para determinar com maior precisão os efeitos de cada regime de alta dose antes de ser introduzido na prática clínica.

Em relação às limitações da pesquisa, os autores reconhecem que um estudo transversal é incapaz de determinar se o baixo desempenho cognitivo é causado pelos quimioterápicos ou por fatores pré-existentes. Entretanto, consideram implausível não reconhecer um papel importante associado à alta dose.

Talvez um outro problema desse estudo foi não identificar exatamente qual quimioterápico específico supostamente ocasiona a toxidade no sistema nervoso central e de que forma isso acontece. Este ponto se mostrou bastante relevante no decorrer das pesquisas.

No ano seguinte, em 1999, o mesmo grupo realizou na Holanda um novo estudo, agora com 73 pacientes com câncer de mama ⁽¹⁰⁾. Eles foram divididos em dois grupos: 39 pacientes receberam quimioterápicos (ciclofosfamida, metotrexate, 5-fluorouracil) e 34 não, constituindo o grupo controle. Ambos foram submetidos à bateria tradicional de testes neuropsicológicos. Os pacientes tratados com a quimioterapia apresentaram 31% de déficit de concentração, comparado com 6% no grupo controle, e 21% de problemas de memória, comparado com 3% no grupo controle. Totalizando os dados da pesquisa, os autores afirmam que os pacientes que receberam tratamento apresentaram 28% de diminuição cognitiva, enquanto aqueles do grupo controle 12%. Essa diminuição cognitiva abrangeu diversos domínios, como atenção, flexibilidade mental, velocidade de processamento, memória visual e função motora.

Essa mesma hipótese, segundo a qual a quimioterapia tem efeitos negativos importantes sobre o desempenho cognitivo, foi endossada pelas pesquisas publicadas em 2000, realizadas por um grupo situado em Toronto (Canadá) ⁽¹¹⁾. Eles avaliaram a função cognitiva em pacientes tratados para câncer de mama com dose standard de quimioterápico adjuvante. Esses pacientes foram comparados com um grupo de pessoas saudáveis a fim de avaliar os possíveis impactos da quimioterapia no desempenho cognitivo.

Foram avaliadas 107 mulheres, divididas em 3 grupos. O grupo A foi composto por 31 mulheres com câncer de mama recebendo quimioterapia adjuvante. O grupo B constituiu-se de 40 mulheres que haviam recebido tratamento quimioterápico numa média de 2 anos antes. E o grupo C foi composto de 36 mulheres saudáveis. Os três grupos foram submetidos ao teste neuropsicológico HSCS (High Sensitivity Cognitive Screen) ⁽¹²⁾, que já havia sido validado

em 1989 e se aplica a indivíduos entre 16 e 65 anos. Nesse teste são avaliados seis domínios cognitivos: memória, linguagem, atenção e concentração, autocontrole e planejamento, habilidade visual-motora e habilidade espacial. As respostas são orais, escritas, desenhos e movimentos dos braços ao comando e pode ser realizado entre 25 a 30 minutos aproximadamente. Os resultados desse teste são classificados nas categorias de normal, limítrofe e anormal. A anormalidade é classificada em leve, moderada ou severa, com a indicação do tipo de diminuição cognitiva identificada.

Os resultados indicaram que em média 50% dos indivíduos tratados (grupos A e B) apresentaram diminuição cognitiva moderada ou severa, enquanto nos não tratados (grupo C) essa diminuição apareceu em aproximadamente 10 % dos indivíduos. Além disso, não houve uma diferença significativa entre os pacientes que já haviam recebido tratamento quimioterápico quando comparados com aqueles que ainda estavam em tratamento. Isso indica que talvez os efeitos da quimioterapia sobre a função cognitiva não são reversíveis no período considerado pela pesquisa (em média 2 anos).

A distância mais significativa nos resultados, considerando domínios cognitivos específicos, ocorreu entre os grupos A e C, no que diz respeito à memória e à linguagem, o que corrobora a hipótese acerca dos efeitos prejudiciais da quimioterapia sobre o desempenho cognitivo. Além disso, em relação aos domínios da linguagem e das habilidades visual-motoras, verificou-se uma diferença significativa entre os grupos B e C. Entretanto, os autores alertam que, como esses domínios não foram considerados inicialmente dentre as hipóteses, talvez fatores confundidores ou significados múltiplos resultantes dos testes possam não ter sido adequadamente considerados.

O estudo também buscou levar em conta a influência de distúrbios de humor no desempenho cognitivo. Para isso, foi utilizado o teste POMS⁽¹³⁾ (Profile of Mood States), que é auto-aplicável e avalia o estado afetivo transitório em indivíduos e também é altamente sensível para determinar distúrbios de humor como ansiedade e depressão. Esse teste avalia 6 componentes: tensão-ansiedade, agressividade-hostilidade, fadiga-apatia, depressão-desânimo, vigor-atividade e confusão-desorientação. O teste pode ser realizado em aproximadamente 3 a 5 minutos.

A partir dos resultados dessa avaliação, os autores concluíram que o nível de distúrbio de humor é um pouco mais alto nos pacientes tratados com quimioterapia do que no grupo controle, entretanto essa diferença não é significativa.

Segundo os autores, os resultados gerais dessa pesquisa estão em consonância com aquelas das demais, que indicam que a quimioterapia adjuvante tem influência sobre a dimi-

nuição da função cognitiva. Entretanto, também reconhecem as limitações do desenho do estudo, especialmente pelo fato de a amostra ser pequena (apenas 107 pacientes) e o grupo controle ser constituído de indivíduos saudáveis. Os autores reconhecem que estudos longitudinais com pacientes avaliados antes da terapia, servindo eles mesmos de grupo controle, são mais adequados.

Em 2002 o grupo da Holanda publica um novo trabalho ⁽¹⁴⁾ avaliando os efeitos tardios da quimioterapia adjuvante sobre a função cognitiva em pacientes com câncer de mama. Foram formados quatro grupos, três com diferentes regimes quimioterápicos e um grupo controle sem esse tratamento. O primeiro grupo foi formado por 22 pacientes e recebeu alta dose de CTC (ciclofosfamida, tiotepa, carboplatina). O segundo grupo foi formado por 23 pacientes e recebeu a dose standard de FEC (5-fluorouracil, epidoxorrubicina e ciclofosfamida). E o terceiro grupo foi formado por 31 pacientes que receberam também a dose standard de CMF (ciclofosfamida, metotrexate, 5-fluorouracil). O grupo controle foi constituído por 27 pacientes, com câncer mas com nódulo axilar negativo e recebendo tratamento não quimioterápico.

Foram realizados testes neuropsicológicos tradicionais, além de um teste de qualidade de vida (EORTC QLQ-C30). Esses testes foram realizados duas vezes: 2 anos após o término do tratamento (T1) e 4 anos após o tratamento (T2), visando avaliar se houve melhora na condição cognitiva dos pacientes em relação ao primeiro teste.

Os dados da pesquisa mostraram que em T1 houve uma discrepância importante entre os resultados dos grupos submetidos à quimioterapia em relação ao grupo controle. Entretanto, em T2 essa discrepância foi fortemente atenuada, de tal forma que o desempenho passou a ser similar ao grupo controle. Isso sugere que os efeitos nocivos do tratamento quimioterápico sobre a função cognitiva são reversíveis em longo prazo (em torno de 4 anos).

Essa tentativa de avaliar os efeitos da quimioterapia em longo prazo foi levada adiante por duas outras pesquisas, publicadas no mesmo ano. A primeira delas, realizada na Universidade de Virgínia (USA) por Freeman e Broshek ⁽¹⁵⁾, buscou estabelecer a diferença entre mulheres com câncer de mama sobre regime quimioterápico com aquelas que já haviam concluído o tratamento. Submetidas aos testes neuropsicológicos tradicionais, a conclusão foi que as que já haviam concluído o tratamento obtiveram um desempenho melhor do que aquelas que ainda estavam sob quimioterapia.

A outra pesquisa foi realizada por um grupo de pesquisadores norte-americanos liderados por Ahles ⁽¹⁶⁾, propondo uma investigação sobre os efeitos de tratamentos quimioterápicos em sobreviventes de câncer de mama e linfoma num período superior a 5 anos. Foram investigados 71 pacientes com câncer de mama ou linfoma que haviam sido submetidos à

quimioterapia e 57 pacientes com as mesmas patologias mas sem terem realizado quimioterapia. Foram aplicados os testes neuropsicológicos tradicionais e uma auto-avaliação de funções cognitivas e psicológicas (memória, depressão, ansiedade e fadiga).

Os resultados da pesquisa apontam algumas diferenças de desempenho na bateria de testes neuropsicológicos. Essas diferenças dizem respeito principalmente aos domínios que abrangem as memórias verbal e visual e as habilidades psicomotora e espacial. Em outras palavras, a pesquisa sugere que, para a maioria das pessoas, o déficit cognitivo desencadeado pelos quimioterápicos é reversível em longo prazo.

Entretanto, essas diferenças são relativamente sutis em relação à população considerada em seu conjunto, embora importantes em relação a indivíduos. Além dessa ponderação, os autores também afirmam que a pesquisa é limitada pela perda da avaliação cognitiva antes do tratamento (quimioterápico ou local) proposto. Eles afirmam que pacientes com desempenho anterior ao tratamento acima do normal não tiveram um possível decréscimo detectado pelos testes. Da mesma forma, pacientes com desempenho abaixo do normal antes do tratamento tiveram seu mau resultado, detectado nos testes, relacionado à quimioterapia, mesmo que não tenham sido afetados por ela. Assim, para que a comparação entre os dois tratamentos pudesse ser conclusiva, seria necessário realizar o conjunto dos testes neuropsicológicos anteriormente à realização da terapia.

De qualquer maneira, a partir dos resultados obtidos e das pesquisas que foram avaliadas, os autores afirmam que mais investigações são necessárias. Em especial, os autores recomendam estudos longitudinais prospectivos, com avaliações anteriores e posteriores ao tratamento quimioterápico. Seria importante oferecer aos pacientes informações sobre os possíveis efeitos sobre a função cognitiva em decorrência do tratamento. Entretanto, para isso são necessários maiores estudos que possam identificar os agentes ou a combinação de agentes citotóxicos associados ao declínio no desempenho cognitivo.

Em 2003 o grupo de Toronto realizou nova pesquisa usando como grupo controle indivíduos saudáveis⁽¹⁷⁾. Dessa vez, para cada mulher com câncer de mama recebendo quimioterapia adjuvante existia outra, com um perfil similar (grupo controle). Foram avaliados 100 mulheres de cada grupo, mediante a aplicação dos testes HSCS, FACT-G (Functional Assessment of Cancer Therapy-General), FACT-F (Functional Assessment of Cancer Therapy for Fatigue) e FACT-ES (Functional Assessment of Cancer Therapy Endocrine Symptoms). Foram realizados também testes de atenção e tempo de reação.

Este estudo mostrou uma diferença na diminuição do desempenho cognitivo entre os pacientes submetidos à quimioterapia (16%) em relação aos indivíduos do grupo controle

(4%). A mesma relação foi verificada no que diz respeito à fadiga (46% versus 31%), a sintomas menopausais (64% versus 58%) e aos domínios físicos e funcionais (93% versus 77%). Os autores sugerem que tais diferenças podem ser atribuídas à quimioterapia, e que pesquisas para reduzir sua toxicidade são recomendáveis. Entretanto, o próprio trabalho alerta para seus limites metodológicos, especificamente relacionados ao grupo controle. O trabalho mostra que estudos longitudinais seriam mais recomendáveis, mas faz ponderações a respeito das dificuldades técnicas em conduzi-los. Segundo o autor, se buscasse tomar como grupo controle os próprios pacientes, seria necessário realizar uma avaliação prévia à quimioterapia, mas posterior ao diagnóstico. Mas essa avaliação já não seria capaz de se antepor aos efeitos sobre a cognição causados pelo estresse do diagnóstico, pelos anestésicos e pela cirurgia. Por outro lado, se tentasse fazer a avaliação antes do diagnóstico, seria preciso lidar com um número muito grande de pacientes, já que em média apenas de 20 a 25% das biópsias por agulha para câncer de mama tem resultado positivo.

Em 2004 foram realizadas três pesquisas sobre o tema. A primeira delas, realizada no Texas (USA) ⁽¹⁸⁾ partiu da constatação de que os pacientes mostram déficits cognitivos também antes da quimioterapia. Assim, buscou avaliar qual é a real contribuição da quimioterapia na disfunção cognitiva em pacientes com câncer de mama. Foram avaliadas 18 pacientes antes de iniciar a terapia sistêmica. Os resultados mostraram que 33% das mulheres estudadas já apresentavam diminuição cognitiva. Na primeira avaliação realizada após o término da administração de drogas utilizadas para controlar náusea, vômitos ou que tenham atividade sobre o sistema nervoso central (3 semanas a 6 meses após o término da quimioterapia), esse percentual subiu. 61% das mulheres apresentavam diminuição cognitiva em pelo menos um dos domínios estudados e reportaram grande dificuldade em manter sua habilidade de trabalho. As disfunções cognitivas mais comuns diziam respeito à atenção, aprendizado e velocidade de processamento. Numa segunda avaliação, realizada após um ano do término da quimioterapia, 50% das pacientes que haviam tido diminuição cognitiva no primeiro teste obtiveram alguma melhora, enquanto os outros 50% permaneceram estáveis. Com base nesses dados, os autores afirmaram serem necessárias mais pesquisas longitudinais, além de estudos sobre os mecanismos etiológicos que levariam a quimioterapia a induzir disfunção cognitiva.

A segunda pesquisa realizada nesse ano ocorreu na Flórida (USA). Jacobsen et al. ⁽¹⁹⁾ buscaram estabelecer uma correlação entre as mudanças nos níveis de hemoglobina, aumento da fadiga e alterações nas funções cognitivas. Participaram da pesquisa 77 pacientes com diversos tipos de câncer (sólido). A primeira amostra dos níveis de hemoglobina assim como a

primeira avaliação neuropsicológica foram realizadas imediatamente antes do primeiro ciclo de quimioterapia. As segundas ocorreram entre o terceiro e o quarto ciclos quimioterápicos.

Os resultados mostraram que houve coincidência entre a diminuição dos níveis de hemoglobina, o aumento da fadiga e o declínio nos testes cognitivos. Em média, os índices de hemoglobina baixaram de 12,49 g/dL para 11,41 g/dL e foram acompanhados por um aumento da fadiga e por uma piora no desempenho nos testes cognitivos. O aumento da fadiga e a diminuição das funções cognitivas foram ainda maiores quando se considerou apenas os 49 pacientes que tiveram uma diminuição nos níveis de hemoglobina. Assim, com esses resultados, os autores levantam a hipótese de que, além de o declínio nos níveis de hemoglobina estar associado à fadiga, ele também contribui para a diminuição do desempenho cognitivo.

A terceira pesquisa realizada em 2004 sobre o tema ocorreu na Califórnia (USA). Castellon et al. ⁽²⁰⁾ investigaram se a função cognitiva de pacientes com câncer de mama expostos à quimioterapia sistêmica adjuvante difere daqueles que não receberam quimioterapia. Foram constituídos três grupos de sujeitos pesquisados: 36 pacientes com câncer de mama que já haviam concluído o tratamento quimioterápico, 19 pacientes com câncer de mama que não foram submetidos a tratamento quimioterápico e 19 indivíduos saudáveis (grupo controle). Todos eles foram submetidos à bateria tradicional de testes neuropsicológicos. Os indivíduos que realizaram tratamento quimioterápico tiveram um desempenho pior tanto em relação aos que foram submetidos a outras formas de tratamento, quanto em relação aos indivíduos saudáveis.

No ano seguinte na Florida, Donovan et al. ⁽²¹⁾ realizaram estudo com dois grupos de pacientes com câncer de mama que foram avaliados 6 meses após terem completado o tratamento com a bateria tradicional de testes neuropsicológicos: um grupo com 60 mulheres submetidas à quimioterapia associada à radioterapia e outro com 83 pacientes que realizaram somente quimioterapia. Os resultados dessa avaliação mostraram não haver diferença estatística significativa entre os dois grupos. Ou seja, contrariando a maioria dos outros estudos, esses achados não confirmaram que a quimioterapia adjuvante causa problemas cognitivos em mulheres com câncer de mama.

Tais achados, entretanto, são contrariados por Schilling et al. ⁽²²⁾ que, em Brighton (UK), comparam a função cognitiva de 50 pacientes com câncer de mama tratados com quimioterapia com a de 43 indivíduos saudáveis. Nos pacientes com câncer, a função cognitiva foi avaliada antes do tratamento e duas vezes após a sua conclusão (em 4 semanas e em 18 meses). O estudo revelou uma diminuição de 34 % no desempenho cognitivo do grupo dos pacientes em tratamento, enquanto no grupo controle a diminuição se manteve em 19%. Com

isso, os pesquisadores reforçam a idéia de que é necessário levar em conta a possibilidade de efeitos nocivos à cognição relacionados à quimioterapia no momento da decisão sobre o tratamento a ser realizado.

Nesse mesmo ano, o grupo de Toronto realiza novo estudo ⁽²³⁾, seguindo aquele realizado em 2003 ⁽¹⁷⁾. Dessa vez, foram avaliados fadiga, sintomas menopausais e disfunção cognitiva em aproximadamente 90 pacientes recebendo quimioterapia adjuvante para câncer de mama. Foi recrutado um número semelhante de indivíduos saudáveis, mas com um perfil similar aos pacientes oncológicos, para compor o grupo controle. Foram realizadas três avaliações neuropsicológicas, uma durante a quimioterapia, outra após 1 ano de sua conclusão e a última após 2 anos. A incidência de disfunção moderada-severa nos pacientes submetidos ao tratamento foi de 16% (sob quimioterapia), 4,4 % (1 ano após) e 3,8 % (2 anos após), e no grupo controle passou de 5% (primeira medição), 3,6% (1 ano) e 0% (2 ano). Esses dados indicam novamente que a fadiga, os sintomas menopausais e principalmente as disfunções cognitivas são importantes efeitos adversos da quimioterapia, mas parecem diminuir ao longo do tempo na maior parte dos pacientes.

Fazendo um balanço geral das pesquisas sintetizadas e valendo-se das meta-análises realizadas por Tannock et al. ⁽²⁴⁾ em 2004, por Stewart et al. ⁽²⁵⁾ em 2006 e por Vardy et al. ⁽²⁶⁾ em 2007, pode-se extrair as seguintes conclusões. De maneira geral, os resultados indicam que a quimioterapia adjuvante resulta em um pequeno mas significativo declínio global das funções cognitivas. Os domínios mais afetados foram linguagem, memória de curto prazo e habilidades espaciais. Em menor grau, foi encontrado algum prejuízo nos domínios da memória de trabalho e de longo prazo e na velocidade de processamento, sugerindo então que os efeitos da quimioterapia adjuvante sobre a função cognitiva são de natureza global. A maioria dos estudos que consideraram os efeitos da quimioterapia também em longo prazo indicam que eles são em alguma medida reversíveis. Por fim, alguns poucos estudos mostram que altas doses de quimioterápicos tem um efeito negativo mais importante sobre a função cognitiva do que a dose standard. Uma visão geral sobre as pesquisas realizadas pode ser obtida observando o quadro abaixo.

Autor	Ano	Desenho	n	Caracterização da amostra	Teste cognitivo	Dimin. cognitiva
Meyers	1995	Prospec.	21	CA de Pulmão pré-QT	BT	Não
			25	CA de Pulmão pós-QT/radioterapia		
Wieneke	1995	Transv.	28	CAM pós-QT	BT	75%
Van Dam	1998	Transv.	34	CAM após alta dose de QT	BT	32%
			36	CAM QT Standart		17%
			34	C: CAM sem QT		9%
Schagen	1999	Transv.	39	CAM pós-QT	BT	28%
			34	C: CAM sem QT		12%
Brezden	2000	Transv.	31	CAM em QT	HSCS	48%
			40	CAM pós-QT		50%
			36	C: saudáveis		11%
Schagen	2002	Transv.	22	CAM pós-QT alta dose	BT	14%
			23	CAM pós-QT standart (FEC)		9%
			31	CAM pós-QT standart (CMF)		13%
			27	CAM sem QT		11%
Ahles	2002	Transv.	71	CAM e linfoma pós-QT	BT	39%
			57	C: CAM e Linfoma sem QT		14%
Tchen	2003	Transv.	100	CAM em QT	HSCS	16%
			100	C: saudáveis		4%
Wefel	2004	Prosp./Long. 0, 6 e 18 meses	18	CAM com QT	BT	33% pré-QT 61% 6 m. 33% 18 m
Jacobsen	2004	Prosp./Long.	77	Tumores sólidos, mistos	BT	Não avaliado
Castellon	2004	Transv.	36	CAM pós-QT	BT	QT<CAM ~QT CAM ~QT=C
			19	Controle: CAM sem QT		
			19	Controle: Saudável		
Donovan	2005	Transv.	60	CAM pós-QT	BT	Não
			83	C: CAM sem QT		
Shilling	2005	Long. 0 e 6 meses	50	CAM que irão fazer QT	BT	34% QT
			43	C: saudável		19% C
Mar Fan	2005	follow-up 1 - 2 anos	91- 83	CAM pós-QT (1 e 2 anos)	HSCS	4,4-3,6%
			83- 81	C: saudável (1 e 2 anos)		3,8-0%

Quadro 1 - Pesquisas sobre os efeitos dos quimioterápicos sobre a cognição em humanos.

Fonte: Vardy et al. ⁽²⁶⁾.

CA: Cancer, CAM: Câncer de Mama, QT: quimioterapia, C: controle, n: tamanho da amostra, BT: Bateria tradicional de testes neuropsicológicos, HSCS: High Sensitive Cognitive Screen.

A partir de 2006, as pesquisas com humanos utilizando testes neuropsicológicos continuaram. Entretanto, vários limites dessas abordagens foram sendo evidenciados ao longo do tempo. De modo geral, os estudos longitudinais em pacientes com sobrevida muitas vezes limitada são difíceis, pois demandam a inclusão, no início da pesquisa, de um contingente muito grande de indivíduos. A própria aplicação de testes neuropsicológicos requer um longo período de tempo, que excede muitas vezes os limites tolerados por pacientes envolvidos no tratamento contra o câncer. Variáveis associadas a alterações orgânicas e psicológicas relacionadas à própria doença podem interferir no desempenho cognitivo que é medido pelos testes. Além disso, o grande número de fármacos administrados como adjuvantes no tratamento

do câncer (por exemplo, analgésicos opióides e antieméticos com ação serotoninérgica, antiinflamatórios esteróides), a radioterapia e alterações neurológicas e emocionais relacionadas à própria doença podem afetar a função cognitiva, interferindo na identificação dos efeitos dos agentes anti-neoplásicos;^{(1),(5),(24)} e os próprios tratamentos anti-neoplásicos, na medida em que são compostos por diferentes fármacos associados, dificultam a identificação exata de qual ou quais deles apresentam a toxicidade ao sistema nervoso que supostamente induz déficits cognitivos. Outra problemática, no que diz respeito à pesquisa com humanos, é a dificuldade em padronizar os testes que avaliam as funções cognitivas. Por exemplo, Shilling et al.⁽²⁷⁾, numa pesquisa que aplicou diferentes métodos de avaliação cognitiva e de análise estatística para verificar em que medida a escolha por um ou por outro modelo influencia decisivamente os resultados do estudo, constataram que a extensão do déficit cognitivo depende do método de análise. Para eles, ainda é necessário um esforço dos pesquisadores envolvidos para estabelecer critérios universais que permitam definir consensualmente o que deve ser considerado disfunção cognitiva a partir dos resultados dos testes. Esses e outros limites das pesquisas com humanos revelaram à necessidade de investigações utilizando modelos animais, o que será explorado na seqüência deste texto. Mas, antes disso, apresentar-se-á alguns mecanismos que são sugeridos como hipóteses para explicar os efeitos dos quimioterápicos sobre a cognição, que resultaram de observações e de pesquisas envolvendo seres humanos.

2.2 Possíveis mecanismos que induzem alterações cognitivas na quimioterapia

Para compreender que papel a quimioterapia tem no desenvolvimento de problemas cognitivos, é preciso identificar os mecanismos que possivelmente são responsáveis por essa interação. Ahles e Saykin⁽²⁸⁾, sistematizando pesquisas já realizadas com esse intuito, publicaram uma importante revisão em 2007, que será apresentada a seguir.

Em primeiro lugar, os autores apresentam as funções cognitivas que podem ser afetadas pelos tratamentos quimioterápicos. Essas informações estão sintetizadas no quadro abaixo.

Função cognitiva	Descrição	Região anatômica afetada
Memória de trabalho	Habilidade de estocar e manipular temporariamente a informação.	Pré-frontal e parietal bilaterais.
Memória declarativa episódica	Habilidade de aprender e reter nova informação contextual.	Lobo temporal medial e córtex pré-frontal.
Memória remota	Habilidade de resgatar memórias do passado	Lobos frontal e temporal.
Memória verbal	Modalidade específica de memória para palavras, material narrativo apresentado verbalmente e/ou em escrita.	Hemisfério esquerdo.
Memória visual	Modalidade específica de memória para objetos, faces, figuras ou localização, apresentada visualmente.	Hemisfério direito.
Funções executivas	Sistema que controla outros processos cognitivos (planejamento, aquisição de regras, início apropriado de ação, inibição da resposta competidora e seleção relevante da informação).	Córtex pré-frontal dorsal lateral bilateral.
Velocidade de processamento	Velocidade e eficiência na qual a informação é usada para completar a tarefa.	Rede subcortical frontal.
Habilidade visual, espacial e construcional	Habilidade para visualizar e manipular objetos bi ou tridimensionais.	Região frontal e parietal direita.
Atenção	Habilidade de focar sobre certa informação ou estímulo e ao mesmo tempo ignorar outra informação ou estímulo	Rede subcortical frontal.
Concentração	Habilidade em manter a atenção sem ser distraído por outro estímulo.	Rede subcortical frontal.
Tempo de reação	Tempo para reagir a estímulo considerado complexo.	Rede subcortical frontal.
Velocidade motora e destreza	Velocidade e acurácia com as quais se pode realizar tarefas motoras simples e manipular objetos.	Sistema motor piramidal e extrapiramidal e frontal bilateral.

Quadro 2 - Funções cognitivas e regiões cerebrais afetadas pela quimioterapia.

Fonte: Ahles TA, Saykin AJ.⁽²⁸⁾

Tendo em vista esse quadro, os autores afirmam que os estudos realizados até aquela data revelavam que as mudanças cognitivas associadas à quimioterapia são geralmente sutis e ocorrem em vários domínios da cognição, incluindo memória de trabalho, funções executivas e velocidade de processamento. Além disso, apesar de as alterações cognitivas agudas serem comuns, mudanças cognitivas crônicas parecem persistir em apenas 17 a 34% dos sobreviventes de câncer.

Os autores também discutiram as pesquisas por imagem (ressonância nuclear magnética estrutural e funcional, tomografia com emissão de pósitrons e ressonância através de difusores de tensão de imagem) que observaram mudanças estruturais e funcionais no cérebro associando-as à quimioterapia. Essas pesquisas relataram uma redução no volume das estruturas cerebrais importantes para o funcionamento cognitivo e mudanças na integridade das fibras de substância branca que conectam as estruturas cerebrais. Além disso, um estudo longitudinal em pacientes com carcinoma de mama, avaliados antes do tratamento com quimioterápicos e 1 a 12 meses após, revelara uma redução na ativação da área frontal, que é crucial para o funcionamento normal da memória de trabalho.

Outro estudo mencionado, também em pacientes com carcinoma de mama e utilizando o eletroencefalograma, avaliou o potencial evocado cognitivo (P-300), que avalia o processamento da informação que é dependente da atenção, em pacientes submetidos à quimioterapia. Observou-se uma diminuição da amplitude e latência, o que é consistente com a mudança na capacidade de processar a informação.

Os autores discutem também o fato de que vários estudos mostraram que pacientes com câncer apresentam problemas cognitivos antes mesmo da realização da quimioterapia, de tal forma que o câncer foi considerado um fator de risco para o desenvolvimento de problemas cognitivos. Isso indica que as mudanças cognitivas associadas à quimioterapia precisam ser estudadas dentro de um quadro mais amplo de mudanças biológicas relacionadas ao câncer. Em vista disso, os autores se propõem a tarefa de mapear alguns mecanismos biológicos que podem estar associados ao desenvolvimento de quadros de déficit cognitivo, o que será apresentado a seguir.

O primeiro mecanismo discutido pelos autores diz respeito à barreira hematoencefálica. Para eles, havia um consenso segundo o qual a maioria dos quimioterápicos não atravessaria a barreira hematoencefálica, com exceção do metotrexato e do 5-fluorouracil. Porém, revisões já haviam sugerido que quase todos os quimioterápicos usados frequentemente podem causar desordens no sistema nervoso central, incluindo encefalopatias e leucoencefalopatias, o que evidencia o fato de que eles são capazes de ultrapassar a barreira hematoencefálica. Entretanto, para os autores restava ainda determinar se os níveis da droga no cérebro que influenciavam na função cognitiva são menores do que a dose eficaz para o tratamento de tumores.

Em relação a isso, o trabalho de Dietrich et al.⁽²⁹⁾ já mostrara que os quimioterápicos estão associados ao aumento da morte celular e à diminuição da divisão celular da zona subventricular do hipocampo, áreas essas importantes para a função cognitiva normal. E o mais importante: esses resultados foram visto em doses menores do que as necessárias para a morte das células tumorais.

Esse fenômeno poderia estar relacionado à variabilidade dos transportadores da droga na barreira hematoencefálica. O gene MDR1 codifica a glicoproteína P-gp, que transporta as substâncias tóxicas para fora dos capilares endoteliais do cérebro. Um polimorfismo de MDR1 pode ocasionar uma disfunção na proteína P-gp, prejudicando a eliminação dos quimioterápicos do cérebro. Ahles e Saykin⁽²⁸⁾ afirmam que pesquisas já demonstraram que camundongos com deficiências em P-gp têm maior concentração do agente quimioterápico vincristine no cérebro.

O segundo mecanismo discutido é o estresse oxidativo, levando ao dano no DNA. Ele ocorre através da exposição a toxinas exógenas bem como a toxinas endógenas do metabolismo celular normal. Os quimioterápicos, embora sejam administrados no intuito de eliminar as células tumorais, afetam também o DNA das células normais. Os autores mencionam pesquisas que encontraram danos no DNA de linfócitos no sangue periférico e aumento no número de mutações no DNA mitocondrial em pacientes submetidos à quimioterapia. Além disso, doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson, que têm sintomas de déficit cognitivo, parecem estar associadas a alterações no DNA. E pacientes com problemas cognitivos, quando necropsiados, revelam um alto índice de dano oxidativo ao DNA dos leucócitos periféricos e das células cerebrais.

Nesse contexto, os autores também incluem estudos sobre os mecanismos de reparo do DNA. Segundo eles, as pesquisas mostram que eles são fatores de risco tanto para o câncer quanto para doenças neurodegenerativas, que levam a sintomas cognitivos.

Outro fator diretamente associado à degeneração celular é o encurtamento dos telômeros. Esse processo ocorre naturalmente e está associado ao envelhecimento, mas pode ser influenciado por variações genéticas, estresse oxidativo e quimioterapia.

O terceiro mecanismo estudado pelos autores é a regulação do processo inflamatório pelas citocinas, que têm um papel importante sobre o sistema nervoso central, especialmente na modulação da função e reparo neural, no metabolismo da dopamina e serotonina e no funcionamento das células da glia. Disfunções no funcionamento das citocinas têm sido associadas a doenças degenerativas, como Alzheimer, Parkinson e Esclerose Múltipla, e à fadiga, a distúrbios cognitivos e à depressão. Altos níveis de citocina parecem estar associados a uma maior probabilidade de problemas cognitivos. Além disso, os autores indicam que pesquisas recentes demonstram que processos inflamatórios que ocorrem no sistema nervoso periférico podem desencadear a liberação de citocinas no sistema nervoso central por estímulo do nervo vago. Todas essas informações, somadas às evidências de que tratamentos quimioterápicos aumentam a liberação de citocinas, fazem destas um possível mecanismo que pode ser associado aos quadros de déficit cognitivo em pacientes em tratamento contra o câncer.

O quarto mecanismo identificado pelos autores diz respeito à genética do reparo neural. A apolipoproteína E (apoE) é uma glicoproteína que facilita a captação, o transporte e a distribuição de lipídios e parece ter papel importante no reparo e na plasticidade neural após lesão. Ela é codificada pelo gene *APOE* que tem três alelos: E2, E3 e E4. Em modelos animais, a presença do alelo E4 tem sido associada ao aumento da mortalidade e a um empobrecimento da capacidade de reparo após traumas. Em humanos, verificou-se associação entre a

presença desse alelo e um menor desempenho em avaliações neuropsicológicas em pacientes com câncer após doses standard de quimioterápicos, assim como a disfunções cognitivas como Alzheimer. Verificou-se que esse alelo está associado a um volume menor na região do hipocampo, que é importante para a memória. Outro elemento ligado ao reparo neural é o fator neurotrófico cerebral (BDNF), que se expressa particularmente no córtex pré-frontal e no hipocampo. Ele tem sido associado ao reparo, à plasticidade e à sobrevivência neural, ao crescimento dendrítico e axonal e à potenciação de longo termo (LTP). Polimorfismos nesse fator foram relacionados com uma diminuição na memória e nas funções executivas e com um menor volume do hipocampo em populações sem câncer.

O quinto e penúltimo fator relacionado pelos autores são as alterações genéticas nos neurotransmissores. A Catecol-O-metiltransferase (COMT) é uma enzima diretamente envolvida no metabolismo da dopamina, que é um importante neurotransmissor, fundamental para mediar funções executivas e memória no córtex frontal. Um polimorfismo dessa enzima substitui o aminoácido valina por metionina. Essa substituição torna a COMT menos eficiente no metabolismo da dopamina. Estudos mostram que a presença do alelo com valina está relacionada a resultados mais pobre em testes da função cognitiva.

O sexto e último fator que pode induzir alterações cognitivas em pacientes que estejam realizando tratamento quimioterápico são os níveis de estrógeno e testosterona. Esses dois hormônios, dentre outras funções, estão associados à manutenção do comprimento dos telômeros e à capacidade antioxidante. É sabido também que a menopausa natural está ligada a uma diminuição da performance cognitiva. Certos tratamentos quimioterápicos (tamoxifeno e inibidores da aromatase) para o câncer, por sua vez, tem efeito sobre a liberação desses hormônios, acentuando ou desencadeando o declínio cognitivo.

Os 6 mecanismos abordados são apresentados abaixo:

Mecanismo	Ação
Barreira hematoencefálica	Quimioterápicos atravessam a barreira hematoencefálica mesmo em doses menores daquelas necessárias para eliminar o tumor. Polimorfismos em MDR1 tornam a proteína P-gp menos eficiente na eliminação de drogas quimioterápicas do cérebro.
Danos ao DNA	Quimioterápicos podem estar associados ao aumento do estresse oxidativo que causa danos ao DNA, o qual é associado ao declínio na capacidade cognitiva. Esses danos podem ser agravados por deficiências nos mecanismos de reparo do DNA e pelo encurtamento dos telômeros.
Regulação das citocinas	Altos níveis de citocinas estão associados com maior probabilidade de problemas cognitivos.
Reparo neural	A presença do alelo E4 foi relacionada a um funcionamento deficiente da apoE, que parece ter papel importante no reparo neural. Esse mecanismo também pode ser comprometido por polimorfismos no BDNF (associado ao reparo, à plasticidade e à sobrevivência neural, ao crescimento dentríptico e axonal e à LTP), tendo efeitos sobre a cognição.
Neurotransmissores	Polimorfismos na COMT levam a um metabolismo menos eficiente da dopamina, tendo efeitos cognitivos.
Níveis de estrógeno e testosterona	A diminuição do nível desses hormônios, induzida pelos quimioterápicos, pode levar a uma piora cognitiva.

Quadro 3 - Prováveis mecanismos para mudanças cognitivas induzidas pela quimioterapia.

Fonte: Ahles e Saukin⁽²⁸⁾.

Como já anunciado anteriormente, os resultados das pesquisas com seres humanos evidenciaram a necessidade de desenvolver investigações utilizando modelos animais, o que será abordado a seguir.

2.3 Pesquisas utilizando modelos animais

O uso de modelos animais nas pesquisas sobre os efeitos cognitivos dos tratamentos quimioterápicos apresentam algumas vantagens importantes. Em primeiro lugar, eles permitem um controle maior sobre o histórico de saúde dos indivíduos, reduzindo assim possíveis efeitos confundidores causados por doenças ou por fatores psicológicos. Em segundo, especialmente em ratos já há uma ampla base de conhecimentos sobre os sistemas neurológicos subjacentes ao aprendizado e à memória. Isso permite estabelecer com mais facilidade relações entre agentes farmacológicos e seus locais de ação específicos. E em terceiro, nas avaliações pode-se combinar técnicas histológicas para identificar os efeitos dos diferentes agentes.⁽³⁰⁾

As pesquisas utilizando modelos animais para avaliar o efeito dos quimioterápicos sobre a cognição iniciam com o trabalho de Lee e colaboradores⁽⁶⁾ em 2006 nos Estados Unidos. Ele teve como objetivo avaliar os efeitos crônicos de dois agentes quimioterápicos separadamente (ciclofosfamida e 5-fluorouracil). Após a administração dos agentes quimioterápi-

cos, foram realizadas duas tarefas, labirinto aquático de Morris e Stone 14-unit T-maze, ambas na 7ª e na 29ª semanas após a administração dos quimioterápicos.

Além desses testes, foi medida a função neuronal sináptica através da potenciação em longo prazo sobre o hipocampo (LTP), como medida eletrofisiológica da força sináptica neuronal, objetivando avaliar os efeitos dos agentes quimioterápicos sobre a plasticidade sináptica.

Trezentos e quarenta e quatro (344) ratos fêmea Fischer foram previamente divididas em duas classes de idade: jovens (7 meses) e velhas (18 meses). O objetivo da utilização de diferentes faixas etárias foi avaliar o possível aumento do efeito tóxico do quimioterápico relacionado à idade do animal. O grupo jovem foi dividido em três grupos de acordo com o tratamento a ser proposto: ciclofosfamida (100mg/Kg, n=25), 5-fluorouracil (150mg/Kg, n=25) e solução salina (SF 0,9%, n=25), administrados intraperitonealmente (i.p.). As 4 primeiras doses foram administradas a cada 4 semanas durante 12 semanas, e a quinta dose e última dose teve um intervalo maior, de 6 semanas, devido à toxicidade. No segundo grupo, com 18 meses, foi injetado somente ciclofosfamida, em uma dose menor do que a recebida pelos ratos jovens (80mg/Kg, n=17), e uma dose da solução salina (n=16), administradas a cada 4 semanas (até a 12ª semana), com um intervalo de 6 semanas para a última dose, da mesma forma que o grupo anterior. Os ratos também foram submetidos a testes hematológicos e a avaliações dentárias.

Avaliando os efeitos tóxicos induzidos pelos quimioterápicos nos animais, pode-se verificar que as fêmeas que receberam solução salina exibiram estável ganho de peso. Por outro lado, nos ratos que receberam 5-fluorouracil (somente jovens) não houve ganho de peso até o final do tratamento, mas em seguida voltaram a ganhar peso aproximando-se daqueles que haviam recebido solução salina. E, no caso dos ratos que receberam ciclofosfamida (tanto jovens quanto velhos), o peso permaneceu estável mesmo após a conclusão do tratamento, não acompanhando o ganho de peso que ocorreu com aqueles que receberam solução salina.

Os dois grupos tratados com ciclofosfamida, em diferentes dosagens (100mg/Kg e 80mg/Kg), apresentaram sinais de toxicidade, como crescimento aberrante de dentes, garras e pobre qualidade dos pelos, além de 9 mortes (4 no grupo jovem e 5 no grupo velho). O autor conclui que os efeitos tóxicos da ciclofosfamida manifestaram-se igualmente entre jovens e velhos, a despeito da redução da dose administrada nestes. Já em relação aos ratos tratados com solução salina e com 5-fluorouracil, não houve manifestação de toxicidade nem morte.

Do ponto de vista hematológico, não houve grandes diferenças entre os grupos e entre os intervalos de tempo das doses em relação ao hematócrito e ao volume de células sanguíneas.

Na avaliação do resultado da ação dos quimioterápicos sobre a memória, o teste do labirinto aquático de Morris, que avalia a capacidade do animal para a aquisição e retenção de memória espacial, utilizou as plataformas visível e submersa. Na plataforma visível, na primeira avaliação (7 semanas após o tratamento) os ratos do grupo controle tiveram um tempo de nado superior aos dois outros grupos, tanto na primeira seção (treinamento) quanto na segunda seção (teste). Já na segunda avaliação (29 semanas), não foram verificadas diferenças significativas nos tempos de nado entre os grupos tanto no treinamento quanto no teste.

Na plataforma submersa, os testes mostraram que, na primeira avaliação (7 semanas) os ratos que receberam tratamento com quimioterápicos obtiveram um desempenho melhor do que os do grupo controle. Já na segunda avaliação (29 semanas), os três grupos tiveram um desempenho semelhante.

Assim, o teste do labirinto aquático de Morris mostrou, tanto na plataforma visível quanto na submersa, uma melhora do desempenho por partes dos ratos submetidos a um regime de quimioterápicos no teste realizado 7 semanas após o tratamento, enquanto em 29 semanas o desempenho de todos os grupos não foi significativamente diferente.

A tarefa de Stone 14-unit T-maze, por sua vez, revelou resultados que levaram basicamente às mesmas conclusões, indicando que melhores resultados nos grupos submetidos à quimioterapia nos testes feitos nas primeiras semanas e resultados similares entre os grupos nos últimos testes.

Para investigar as possíveis conseqüências crônicas da ciclofosfamida sobre a plasticidade sináptica, mediu-se o potencial de longa duração (LTP) em amostras de tecido do hipocampo. Os dados revelaram que a indução de LTP em ratos submetidos à ciclofosfamida estava diminuída durante o tratamento, mas aumentou após a recuperação da quimioterapia, mesmo naqueles intervalos em que não foi verificado um efeito significativo sobre o aprendizado.

Os autores concluem fazendo referência ao trabalho de Schagen et al. ⁽¹⁰⁾, citado acima, que já havia observado, em humanos, a melhora na performance cognitiva em todos os grupos de pacientes tratados com quimioterápicos, além do caráter transitório da disfunção cognitiva após quimioterapia adjuvante. Além disso, eles sugerem que esta melhora no desempenho cognitivo em ratos está associada ao declínio dos níveis de estrógeno, normalmente relacionado à melhora na performance no labirinto aquático de Morris e na indução de LTP.

Uma questão levantada por Seigers et al. ⁽⁴⁾ é que, em humanos, a quimioterapia pode levar à menopausa prematura, a qual reduz os níveis de estrógenos. Mas, em humanos, essa redução está associada ao declínio cognitivo. Ou seja, os mecanismos que explicam os resultados da pesquisa de Lee et al. ⁽⁶⁾ podem não ser os mesmos que explicam os resultados das pesquisas de Schagen et al. ⁽¹⁰⁾.

Essa tentativa de avaliar com mais rigor se quimioterápicos comprometem ou melhoram o desempenho cognitivo foi levada adiante por um grupo de pesquisadores em Porto Alegre (BR), num trabalho publicado em 2006 ⁽³¹⁾. Foram selecionados camundongos com idades entre 70 e 90 dias, para realizarem a tarefa de esquiiva inibitória, um tipo de teste amplamente utilizado para o estudo da consolidação da memória. Neste teste, o roedor aprende a não descer da plataforma a fim de evitar o choque de baixa intensidade nas patas, servindo para medir a formação da memória aversiva.

Os animais foram divididos em 4 grupos, conforme o seguinte tratamento: 8mg/Kg, 40mg/Kg, 200mg/Kg de ciclofosfamida e solução salina i.p.. A tarefa de esquiiva inibitória foi realizada duas vezes, a primeira um dia após a administração do quimioterápico e a segunda uma semana após a administração do quimioterápico. Antes da realização dessa tarefa, realizou-se o comportamento exploratório em campo aberto, para excluir a possibilidade de que desempenhos ruins no outro teste pudessem ter como causa alterações sobre a locomoção, ansiedade e motivação provocadas pelos quimioterápicos.

Na primeira avaliação (1 dia), os camundongos tratados com ciclofosfamida na dose de 40mg/Kg ou 200mg/Kg mostraram significativa diminuição na consolidação da memória quando comparados com os animais do grupo controle. Já na segunda avaliação (1 semana), não houve diferenças significativas entre os grupos. Além disso, no comportamento em um campo aberto, foi observado que a ciclofosfamida não afeta o comportamento exploratório. Isso indica que a diminuição na consolidação da memória observada pelo efeito do quimioterápico não pode ser associada a alterações na função neurológica geral, medida nesta tarefa.

Dessa forma, os autores afirmam que a administração sistêmica de ciclofosfamida em doses mais elevadas afeta a memória aversiva no prazo de 1 dia, mas não tem esse resultado em uma semana.

Outra pesquisa ⁽⁵⁾ realizada em 2006 envolveu 25 fêmeas de camundongos BALB/C, de aproximadamente 4 meses de idade. Dessa vez, foram combinados dois agentes quimioterápicos: metotrexate e 5-fluorouracil. Avaliou-se a função cognitiva em cinco testes: labirinto aquático de Morris standard para memória espacial, reconhecimento de dica para memória não espacial (cue memory), non-matching-to-sample (NMTS), delayed-matching-to-sample

(delayed-NMTS) e black-white. Foram formados dois grupos: um recebeu a associação dos quimioterápicos metotrexate (37,5mg/Kg) e 5-fluorouracil (75 mg/Kg), e o outro grupo (controle) recebeu apenas solução salina, durante 3 semanas (uma dose por semana).

O teste de memória espacial iniciou uma semana após o término do tratamento proposto, e foram realizados nos 5 dias subsequentes. No primeiro dia, percebeu-se um desempenho inferior do grupo tratado em relação ao grupo controle tanto em relação ao número de erros (aproximadamente 20 versus 12), quanto em relação à latência (aproximadamente 65 seg versus 45 seg). Mas esse desempenho foi melhorando ao longo do período de testes (que foi de 5 dias), de tal forma que ao final era equivalente àquele do grupo controle.

Os testes de memória de reconhecimento de dica começaram 48 horas após a conclusão dos testes de memória espacial. Em síntese, os autores afirmam que não houve diferenças significativas entre o desempenho do grupo submetido às drogas e o grupo controle.

48 horas após, iniciou a tarefa NMTS que ocorreu durante 10 dias. O grupo tratado com quimioterápicos teve mais erros do que o grupo controle em todo o período de testes. Além disso, houve uma diminuição do número de erros nos dois grupos comparando, o início dos testes com o final. Em relação à latência, não houve diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado, e ambos tiveram uma diminuição da latência ao longo dos testes.

Um dia após estar completa a tarefa NMTS, iniciou-se o teste DNMTS. Os autores encontraram diminuição do desempenho cognitivo do grupo submetido à droga em todos os tempos avaliados (0, 60, 120 e 240 seg.), quanto comparado ao grupo controle. Entretanto, essa diferença só foi significativa, com relação à latência e ao número de erros simultaneamente, na última medida (240 seg.).

A partir desses achados, os autores discutem possíveis interpretações que relacionem o efeito das drogas sobre o desempenho nas tarefas às funções cerebrais, indicando assim os efeitos dos quimioterápicos sobre regiões específicas do cérebro. A memória espacial depende da integridade funcional do hipocampo, e a memória de trabalho é uma função do lobo frontal, enquanto a memória de reconhecimento de dica parece não depender dessas estruturas, mas sim do núcleo caudado e de estruturas estriadas. Como o desempenho dos ratos tratados foi afetado negativamente nas memórias espacial e de trabalho, mas não na memória de reconhecimento de dica, isso sugere que o efeito dos quimioterápicos não se estende a todas as regiões do cérebro.

Os autores alertam, entretanto, que a pesquisa avaliou os efeitos em curto prazo dos quimioterápicos, já que os testes iniciaram 2 semanas após o tratamento e se estenderam até 5 semanas. Isso significa que essa pesquisa não refuta a hipótese de que os efeitos possam ser

reversíveis em longo prazo. Além disso, já que a combinação de metotrexate e 5-fluorouracil mostrou efeitos sobre a função cognitiva, os autores se perguntam se outras combinações terão efeitos similares ou se a própria doença pode exacerbar o grau de deterioração cognitiva, indicando assim a necessidade de outras pesquisas nessa direção.

Ainda em 2006⁽²⁹⁾, foram avaliados, *in vitro* e *in vivo*, os efeitos de três agentes quimioterápicos (carmustina, cisplatina e citosina-arabinosídeo) sobre as células progenitoras do sistema nervoso central e oligodendrócitos. Grosso modo, a pesquisa demonstrou que essas células são bastante vulneráveis aos quimioterápicos, inclusive em doses abaixo das necessárias para causar a morte da célula tumoral. Os três agentes foram associados a um aumento da morte celular e a uma diminuição da divisão celular na zona subventricular e no giro dentado do hipocampo, que são regiões onde ocorre neurogênese, e no corpo caloso. Em alguns casos, esse fenômeno continuou mesmo algumas semanas após a interrupção das drogas.

Em 2007 um grupo nos Estados Unidos, liderado por MacLeod⁽³⁰⁾, realizou pesquisa em 30 ratos fêmea ooforectomizadas com 8 semanas de idade. Os ratos foram divididos em dois grupos. 15 ratos foram tratados uma vez por semana, durante três semanas, com uma combinação de ciclofosfamida (40 mg/kg) e doxorrubicina (4 mg/kg); os outros 15 (grupo controle) receberam solução salina. Após uma semana, iniciaram as tarefas que avaliaram as funções comportamentais (esquiva inibitória), tendo como objetivo avaliar a capacidade das fêmeas de aprender e lembrar novas informações após o tratamento (memória anterógrada). Os resultados mostraram uma diminuição de desempenho em relação à memória de medo contextual, mas não em relação à memória de medo específico. Como a memória contextual depende do hipocampo, isso indica que esta estrutura pode ter sido afetada pelos quimioterápicos.

O grupo da Holanda publicou em 2008⁽⁴⁾ uma pesquisa envolvendo dois estudos com ratos Wistar investigando os efeitos tardios do metotrexate sobre a proliferação das células do hipocampo e sobre o comportamento cognitivo dos ratos. No primeiro estudo, foi realizada avaliação da dose resposta de metotrexate no peso corporal e na proliferação das células do hipocampo (medida através da proteína Ki-67, envolvida na regulação da proliferação celular) após a administração de 4 doses do quimioterápico (37,5 mg/kg, 75 mg/kg, 150 mg/kg e 300 mg/kg) e uma dose de solução salina (grupo controle). Os resultados mostraram diferença no ganho de peso entre os tratamentos. Todos os grupos tratados tiveram perda de peso após a injeção. Em relação à proliferação celular, o grupo controle apresentou maior proliferação na região do hipocampo (número total de Ki-67) do que os que receberam quimioterápicos (a-

proximadamente: controle=2000, 37,5 mg/kg=1500, 75 mg/kg=1250, 150 mg/kg=1000 e 300 mg/kg=750).

No segundo estudo, foi avaliado o efeito do metotrexate sobre a performance cognitiva no labirinto aquático de Morris e na tarefa de reconhecimento de objetos, que analisa a habilidade de reconhecer uma novidade em um ambiente previamente apresentado. Nestas duas avaliações, os autores utilizaram apenas a dose de 250 mg/kg e a de solução salina. Na primeira tarefa (labirinto de Morris), todos os animais aprenderam a localização da plataforma sem diferença significativa entre os grupos. O grupo tratado demonstrou uma latência maior do que o grupo controle, mas não houve diferenças em velocidade e distância percorrida. Na segunda tarefa (reconhecimento de objetos), os animais foram avaliados 4 semanas após o tratamento. O grupo controle gastou um tempo significativamente maior explorando o objeto novo do que o antigo, enquanto os animais tratados com metotrexate gastaram igual quantidade de tempo para ambos os objetos.

A partir desses achados, os autores levantam a possibilidade de que o metotrexate mesmo em baixas doses teria a capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica, já que seus efeitos citostáticos foram constatados nas células do hipocampo. Os autores indicam que essa hipótese já é interessante por diferir das opiniões correntes.

Abaixo é apresentada uma visão sintética das pesquisas com animais aqui expostas.

Autor	Ano	Grupos/Droga/Doses	Avaliações	Principais resultados	Observações
Lee	2006	5 doses, 1 cada 4 s RF jovens: CFM 100, 5-FU 150, C RF velhas: CFM 80, C	Medição de LTP MWM e T-maze (7ª e 29ª s pós QT)	MWM e T-maze: 1ªA: GT > C/2ªA: GT = C LTP: Durante QT: GT > C Após QT: GT = C	CFM: toxicidade e morte. Melhora cognitiva associada ao declínio de estrógeno.
Reiriz	2006	CFM 8, CFM 40, CFM 200, C	CA EI (24 h e 7 d pós QT)	EI 1ª A.: CFM 40 e 200 < C EI 2ª A.: Sem alt.	Doses elevadas de QT afetam a memória aversiva, mas é reversível.
Winocur	2006	3 doses, 1 por s MTX 37,5, 5FU 75 e C	Espacial 1 d pós QT Dica 3 d pós QT NMTS 5 d pós QT DNMTS 16 d p QT B-W 28 d pós QT	1ªA. GT < C/5ªA. GT = C GT = C GT < C GT < C GT = C	O efeito da QT é restrito a regiões específicas do cérebro.
Dietrich	2006	Carmustina Cisplatina Citosina-arabinosídeo	Ensaio <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	Morte e diminuição da divisão celular (hipocampo e corpo caloso).	Cél. afetadas em doses abaixo das necessárias no tto. do câncer.
MacLeod	2007	3 doses, 1 por s CFM 40, DX 4, C	EI 1 s pós QT Contexto e Específico	Contextual: GT < C Específico: GT = C	Medo contextual depende do hipocampo.
Seigers	2008	MTX 37,5, 75, 150, 300, C. MTX 250, C	Ki-67 (3 s. pós QT) Rec. Obj. (3s p. QT) MWM (4s. p. QT)	GT < C GT < C	MTX (baixa dose) pode ultrapassar a BHE.

Quadro 4 - Pesquisas sobre os efeitos cognitivos dos quimioterápicos em modelos animais.

RF: Ratos fêmea, CFM: Ciclofosfamida, 5-FU: 5-fluorouracil, DX: Doxorubicina, MTX: Metotrexate, QT: Quimioterapia, C: Grupo controle, GT: Grupo tratado, MWM: Morris Water Maze, EI: esquivas inibitórias, A: Avaliação, NMTS: Non-Matching-To-Sample, DNMTS: Delayed-Matching-To-Sample, B-W: Black-White, BHE: Barreira Hematoencefálica, s: semanas, d: dias.

Na medida em que este trabalho investiga os efeitos neurocomportamentais da administração aguda de cisplatina em ratos, apresentaremos a seguir os resultados de algumas pesquisas recentes diretamente relacionadas a essa temática.

2.4 Pesquisas sobre o efeito da cisplatina sobre a cognição em animais

A cisplatina (cis-diaminodicloroplatina II e seus análogos), sozinha ou associada a outros agentes, tem sido um dos quimioterápicos que tem tido impactos importantes no tratamento de tumores sólidos nos últimos 30 anos. ⁽³²⁾ A molécula $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ foi descoberta por Reiset em 1944, mas foi apenas em 1960 que Barnet Rosenberg descobriu que a cisplatina afetava a divisão celular da *Escherichia coli*. Como não podiam se dividir, cresciam formando filamentos alongados. Em seguida, pesquisas foram conduzidas tentando desvendar qual seria o mecanismo de ação dessa molécula. Já na década de 70, começou-se a realizar testes clínicos em pacientes terminais com câncer de testículo e ovário, o que levou ao lançamento da droga no mercado norte-americano em 1979. Desde lá ela vem sendo amplamente utilizada no tratamento de diversos tipos de neoplasias (câncer de pulmão, cabeça, esôfago, estômago, linfomas, melanoma, osteossarcoma, mama e cérvix) ⁽³³⁾.

A cisplatina é um complexo metálico cuja ação antineoplásica se dá em razão de sua capacidade de combinar-se ao DNA impedindo sua replicação e transcrição, que são essenciais à multiplicação celular e à síntese de proteínas. Isso ocorre através da ligação do átomo de platina da molécula com um dos nitrogênios da guanina ou da adenina. ⁽³³⁾

Não obstante o fato de a cisplatina ser uma droga bem sucedida no tratamento do câncer, vários efeitos colaterais tem sido associados à sua administração. Dentre esses, abordar-se-á aqui apenas os que estão relacionados à sua neurotoxicidade.

A cisplatina parece ser neurotóxica especialmente em relação ao sistema nervoso periférico. Entretanto, sua administração foi relacionada também a sintomas como dor de cabeça, encefalopatia, convulsões etc., que são usualmente reversíveis. Esses sintomas podem ser explicados pela passagem da cisplatina pela barreira hematoencefálica, especialmente quando é aplicada diretamente na artéria carótida em pacientes com tumores cerebrais ⁽³⁴⁾.

No sistema nervoso periférico, o paciente pode apresentar câimbras, sinal de Lhermitte e diminuição da sensibilidade ao tato e à temperatura. Verificou-se uma diminuição do potencial de ação sensitivo, um aumento da latência distal sensitiva e uma diminuição moderada da velocidade de condução sensitiva. A função motora não é afetada. Os mecanismos através dos

quais a cisplatina pode induzir esses efeitos não são bem conhecidos. Foram encontradas altas concentrações de cisplatina nas células dos gânglios da raiz dorsal da medula e acredita-se que ela cause mudanças neuronais⁽³⁴⁾.

O estudo dos efeitos da cisplatina sobre o sistema nervoso conduziu as pesquisas à utilização de modelos animais. Cata et al.⁽³⁵⁾ desenvolveram um estudo buscando avaliar em ratos as mudanças comportamentais e neurofisiológicas (associadas à hiperalgesia), ambas em curto prazo, que se seguem ao tratamento quimioterápico. Foram medidos os limiares de sensibilidade nociceptiva mecânica e térmica, através dos filamentos de von Frey. Além disso, foram realizados estudos eletrofisiológicos dos neurônios de ampla faixa dinâmica (WDR) da medula daqueles ratos que apresentaram hiperalgesia.

Os resultados mostraram que a quimioterapia sistêmica com cisplatina produziu mudanças no limiar de sensibilidade mecânica e térmica. Os ratos do grupo controle, que receberam apenas solução salina, e os que receberam 0,1 mg/kg de cisplatina não tiveram alterações nesses limiares durante todo o experimento. Entretanto, aqueles que receberam uma dose de 0,5 mg/kg apresentaram uma diminuição nos limiares a partir do segundo dia, que só retornou ao normal a partir do sétimo dia. Em oposição a isso, o outro grupo que recebeu 1 mg/kg teve um aumento nos limiares de sensibilidade mecânica e térmica a partir do segundo dia, os quais retornaram ao normal a partir do sétimo. Isso sugere que a cisplatina em certas doses pode provocar hipoalgesia, enquanto em outras pode provocar hiperalgesia, e ambas são reversíveis em longo prazo.

Em relação ao estudo eletrofisiológico, os resultados evidenciaram que a cisplatina está associada a uma hiperexcitabilidade dos neurônios de ampla faixa dinâmica (WDR) da medula espinhal relacionada a estímulos mecânicos. Além disso, os autores ressaltam que esse fenômeno é similar ao desencadeado por outros agentes quimioterápicos e mesmo por outras formas de lesões nervosas diretas.

Em segundo estudo em animais sobre os efeitos da cisplatina foi realizado por Carozzi et al.⁽³⁶⁾. Comparou-se a neurotoxicidade periférica da cisplatina (3 e 4 mg/kg) e do paclitaxel (5 e 10 mg/kg), como agentes isolados e em combinação. De modo geral, o estudo mostrou que os efeitos das drogas combinadas são diferentes de seus efeitos enquanto agentes únicos. Testes anatomopatológicos mostraram que combinados esses quimioterápicos tem um efeito mais tóxico sobre o rim e sobre a medula óssea do que quando administrados isoladamente. Isso é interessante para o desenvolvimento de medidas preventivas.

Com relação a ação da cisplatina sobre as células neuronais, o estudo neurofisiológico do nervo caudal em ratos mostrou uma diminuição da velocidade de condução nervosa em

todos os grupos tratados. Além disso, o estudo neuropatológico mostrou mudanças axonais leves no nervo ciático e nas raízes ventrais, especialmente nos animais que foram tratados com paclitaxel.

Os autores ressaltam que o alvo preferencial da ação neurotóxica da cisplatina são os neurônios do gânglio da raiz dorsal (DRG). Sugerem também, a partir de outros estudos, que o mecanismo de ação da cisplatina seja a ligação da molécula dessa substância com o DNA mitocondrial.

Segue abaixo uma visão geral sobre as duas pesquisas apresentadas.

Autor	Ano	Grupos/Droga	Avaliações	Principais resultados	Observações
Carozzi	2008	CP Paclitaxel	4 e 6 s Neurofisiológicos	Dim. da velocidade da condução nervosa	As drogas combinadas formam mais prejudicial do que isoladas. Cisplatina afeta os neurônios do GRD e age sobre o DNA mitocondrial.
			Neuropatológico	Mudanças axonais no n. ciático e nas raízes ventrais (paclitaxel)	
Cata	2008	C CP 0,1 CP 0,5 CP 1	Durante 13 d Limiar sensibilidade térmica e mecânica (fil. de von Frey)	CP 0,1 = C CP 0,5 < C (2° - 7° d) CP 1 > C (2° - 7° d)	Hipo ou hiperalgesia conforme a dose, mas reversíveis em longo prazo.
		Hiperalgésicos	Eletrofisiológico	WDR hiperexcitabilidade	

Quadro 5 - Pesquisas sobre os efeitos neurotóxicos da cisplatina em modelos animais.

CP: Cisplatina, C: Controle, WDR: Rede de neurônios de ampla faixa dinâmica, DRG: Gânglio da raiz dorsal.

Levando em conta esses estudos, percebe-se que há a indicação de que a cisplatina tem efeitos sobre as células neurais. Entretanto, faltam estudos utilizando modelos animais que determinem se a droga induz deterioração cognitiva. Esse é justamente o objetivo deste trabalho. Abaixo apresentar-se-á uma visão sintética sobre uma função cognitiva, a memória aversiva, e sobre o modelo animal que foi escolhido para medi-la, a esQUIVA INIBITÓRIA, na tentativa de determinar se a cisplatina tem efeitos sobre a cognição.

2.5 Memória aversiva e esQUIVA INIBITÓRIA

Segundo Bear et al. ⁽³⁷⁾, aprendizado é o processo através do qual novas informações são adquiridas, enquanto memória é o processo através do qual essas informações são retidas. Segundo Izquierdo ⁽³⁸⁾, a memória pode ser classificada segundo três aspectos: função, tempo e conteúdo. Em relação à função, destaca-se a memória de trabalho ou imediata. É através

dela que “gerenciamos a realidade”, determinando o contexto em que as circunstâncias à nossa volta acontecem e se é necessário memorizar informações ou se elas já estão presentes. É um tipo de memória que não retém informações para além de no máximo poucos minutos. O processamento desta memória ocorre no córtex pré-frontal e está vinculado simplesmente à atividade elétrica dos neurônios dessa região. Além disso, a atividade do córtex pré-frontal em todas as espécies está vinculada ao córtex entorrinal, parietal superior, cíngulo anterior e com o hipocampo.

Em relação ao tempo, as memórias podem ser de curta, de longa ou de remota duração. Memórias de curta duração permanecem apenas por algumas horas. Memórias com duração maior são de longa duração e quando permanecem por muitos meses ou anos são chamadas de memórias remotas. As memórias de longa duração não se formam imediatamente no momento em que são adquiridas, e o processo necessário para a sua formação é chamado de consolidação, que requer, segundo estimativas, de três a oito horas⁽³⁶⁾.

Em relação ao conteúdo, a memória pode ser declarativa ou de procedimento. Enquanto aquela pode ser verbalizada, esta não pode. Memórias declarativas são episódicas (fatos vivenciados) ou semânticas (conhecimentos adquiridos de outras formas). Já memórias de procedimento envolvem habilidades motoras e sensoriais (dançar, dirigir um automóvel, etc.). As memórias declarativas dependem do bom funcionamento da memória de trabalho, e são processadas pelo hipocampo e pelo córtex entorrinal. Mas a formação dessas memórias depende da área basolateral do núcleo amigdaliano, da substância negra, do *locus coeruleus*, dos núcleos da rafe e do núcleo basal de Meynert. Já as memórias de procedimento estão relacionadas ao núcleo caudado e ao cerebelo.

Outro ponto importante para compreender a memória diz respeito aos mecanismos por meio dos quais ela é formada. Um marco desse tipo de estudo foi o clássico trabalho de Pavlov. Ele estabeleceu conceitos básicos sobre memória, que serão apresentados sumariamente a seguir, seguindo a exposição de Bear et al.⁽³⁷⁾.

Memórias de procedimento podem ser formadas através de aprendizados não-associativos ou associativos. No primeiro caso, o sujeito desenvolve resposta a um único estímulo, enquanto no segundo, dois ou mais estímulos são associados.

Aprendizados não-associativos envolvem habituação ou sensitização. A habituação, que é a forma mais simples de aprendizado, é o processo através do qual se aprende a ignorar um estímulo pouco significativo mediante sua repetição. Ou seja, a resposta inicial ao estímulo é atenuada ao longo do tempo pelo fato desse estímulo ser considerado pouco relevante. Por exemplo, o rato que reage inicialmente com estresse ao ser colocado num ambiente novo,

mas com o passar do tempo se habitua com o novo local, deixando de manifestar aquele primeiro comportamento. Na sensitização, o fenômeno é o oposto. Estímulos que normalmente não desencadeiam resposta, por alguma modificação ambiental, passam a ser relevantes, alterando o comportamento.

Aprendizados associativos, por outro lado, ocorrem combinando eventos diversos. A primeira forma de aprendizado associativo é a descrita por Pavlov, chamado de condicionamento clássico. Há dois tipos de estímulo, o incondicionado (US) e o condicionado (CS): naquele, a resposta é desencadeada naturalmente, por fatores biológicos; enquanto neste é necessário algum tipo de treino. No experimento de Pavlov, carne (US) era servida ao cão ao mesmo tempo em que uma campainha era tocada (CS). A resposta do cão (salivação) ao US é chamada de resposta incondicionada (UR).⁽³⁷⁾ Após algum tempo de treino, apenas tocando a campainha era obtida a mesma resposta (salivação), que foi chamada de resposta condicionada (CR). Dessa forma, o cão aprendeu a associar um estímulo biologicamente neutro (campainha) ao estímulo biologicamente significativo (carne), manifestando diante daquele a mesma resposta que era desencadeada por este.

Outra forma de aprendizado associativo é o condicionamento instrumental, descoberto por Edward Thorndike no século XIX e desenvolvido por Skinner e Konorski no século XX. Neste tipo de aprendizado, uma resposta é associada a um estímulo incondicionado (US). Por exemplo, toda vez que um rato toca uma alavanca (CR) recebe comida (US). Assim, aprenderá a tocar a alavanca a fim de (instrumental) receber a recompensa (comida). O condicionamento instrumental pode ser classificado como passivo ou ativo. Quando se aprende a evitar uma resposta para receber o estímulo desejado, o aprendizado é passivo. Já quando se aprende a emitir uma resposta para receber o estímulo desejado, o aprendizado é ativo. Além disso, o estímulo buscado com a resposta pode ser uma recompensa ou apenas a supressão de um estímulo indesejado (castigo). Neste caso, esse estímulo também é chamado de aversivo.

Para mensurar o aprendizado por condicionamento instrumental, uma tarefa comumente utilizada é a esquivia inibitória. Os animais aprendem a não descer de uma plataforma a fim de evitar um leve choque elétrico nas patas. Esse aprendizado acontece normalmente em uma única sessão. Após ter sido exposto ao estímulo, testa-se o grau de memória que foi adquirida. Quanto mais tempo (latência) o animal demora para descer da plataforma, evitando assim o choque, mais eficiente terá sido a formação da memória.

A esquivia inibitória pode medir a aquisição assim como a consolidação de memórias declarativas episódicas, adquiridas num aprendizado associativo de condicionamento instrumental passivo aversivo. Segundo Izquierdo e Medina⁽³⁹⁾, o componente declarativo desta

memória está diretamente relacionado ao hipocampo. Além disso, os autores observam que a formação de memórias de longo prazo ocorre normalmente através de uma repetição do evento a ser aprendido, mas muitas vezes eventos singulares são tão poderosos que podem ser lembrados durante toda a vida. Eles produzem fortes mudanças bioquímicas que são capazes de gerar memórias de longo prazo. Para esses autores, essas mudanças bioquímicas são similares às aquelas que acontecem na formação de memórias em que não há um estímulo forte. A diferença estaria no grau das mudanças bioquímicas ou no número de sinapses envolvidas. A esQUIVA INIBITÓRIA avalia a formação de memórias declarativas episódicas de longo prazo, em que a consolidação da memória é conseguida através de um evento dramático, que é o choque nas patas, o qual é capaz de gerar uma resposta aversiva forte. Por isso, a memória que se forma nesse aprendizado condicionado é chamada de aversiva.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o efeito de agentes antineoplásicos sobre a função neurocomportamental em ratos.

3.2 Específicos

Avaliar, em ratos, os efeitos da administração sistêmica de cisplatina em diferentes doses sobre:

- a) locomoção, ansiedade e comportamento exploratório no teste de exploração ao campo aberto;
- b) aquisição e consolidação da memória não-associativa avaliada na tarefa de habituação;
- c) formação da memória aversiva de longa duração avaliada na tarefa de esquiva inibitória.

4 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Minisini A, Atalay G, Bottomley A, Puglisi F, Piccart M, Biganzoli L. What is the effect of systemic anticancer treatment on cognitive function? *Lancet Oncol.* 2004;5(5):273-282.
2. Izquierdo, I. *Questões sobre memória.* São Leopoldo: Unisinos;2004.
3. Meyers CA, Byrne KS, Komaki R. Cognitive deficits in patients with small cell lung cancer before and after chemotherapy. *Lung Cancer.* 1995;12:231-235.
4. Seigers R, Schagen SB, Beerling W, Boogerd W, Tellingen O, Van Dam FS, et al. Long-lasting suppression of hippocampal cell proliferation and impaired cognitive performance by methotrexate in the rat. *Behavioural Brain Research.* 2008;186:168-175.
5. Winocur G, Vardy J, Binns M, Kerr L, Tannock I. The effects of the anti-cancer drugs, methotrexate and 5-fluorouracil, on cognitive function in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 2006;85(1):66-75.
6. Lee GD, Longo DL, Wang Yue, Rifkind JM, Raman LA, Mamczarz JA. et al. Transient Improvement in Cognitive Function and Synaptic Plasticity in Rats Following Cancer Chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(1):198-205.
7. McKinney, Jr-WT. *Animal research and its relevance to psychiatry.* [Buchverf.] Sadock VA, editors Sadock BJ. *Comprehensive textbook of Psychiatry.* 7th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:545-62.
8. Wieneke MH, Dienst ER. Neuropsychological assessment of cognitive functioning following chemotherapy for breast cancer. *Psychooncology.* 1995;4:61-66.
9. Van Dam FS, Schagen SB, MullerMJ, BoogerdW, vdWall E, Droogleever Fortuyn ME, et al. Impairment of cognitive function in women receiving adjuvant treatment for high-risk breast cancer: high-dose versus standard-dose chemotherapy. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(3):210-8.

10. Schagen SB, van Dam FS, Muller MJ, Boogerd W, Lindeboom J, Bruning PF. Cognitive deficits after postoperative adjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Cancer*. 1999;85(3):640-50.
11. Brezden CB, Phillips KA, Abdolell M, Bunston T, Tannock IF. Cognitive function in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2000;18(14):2695-701.
12. Faust D, Fogel BS. The Development and Initial Validation of a Sensitive Bedside Cognitive Screening Test. *J Nerv Ment Dis*. 1989;177(1):25-31.
13. McNair D, Lorr M, Droppleman L. Profile of Mood States. San Diego: Edits; 1992.
14. Schagen SB, Muller MJ, Boogerd W, Rosenbrand RM, Rhijn D, Rodenhuis S, Van Dam FS. Late effects of adjuvant chemotherapy on cognitive function: a follow-up study in breast cancer patients. *Annals of Oncology*. 2002;13:1387-97.
15. Freeman JR, Broshek DK. Assessing cognitive dysfunction in breast cancer: what are the tools? *Clin Breast Cancer*. 2002;3(3):91-99.
16. Ahles TA, Saykin AJ, Furstenberg CT. Neuropsychologic impact of standard-dose systemic chemotherapy in long-term survivors of breast cancer and lymphoma. *J Clin Oncol*. 2002;20:485-493.
17. Tchen N, Juffs HG, Downie FP, Yi QL, Hu H, Chemerynsky I, et al. Cognitive function, fatigue, and menopausal symptoms in women receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:4175-83.
18. Wefel JS, Lenzi R, Theriault RL, Davis RN, Meyers CA. The cognitive sequelae of standard-dose adjuvant chemotherapy in women with breast carcinoma: results of a prospective, randomized, longitudinal trial. *Cancer*. 2004;100:2292-9.
19. Jacobsen P, Garland L, Booth-Jones M, Donovan KA, Thors CL, Winters E, Grendys E. Relationship of Hemoglobin Levels to Fatigue and Cognitive Functioning Among Cancer Patients Receiving Chemotherapy. *Journal of Pain and Symptom Management*. 2004;28:7-18.
20. Castellon SA, Ganz PA, Bower JE, Petersen L, Abraham L, Greendale GA. Neurocognitive performance in breast cancer survivors exposed to adjuvant chemotherapy and tamoxifen. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2004 Oct;26(7):955-69.

21. Donovan KA, Small BJ, Andrykowski MA, Schmitt FA, Munster P, Jacobsen PB. Cognitive functioning after adjuvant chemotherapy and/or radiotherapy for early-stage breast carcinoma. *Cancer*. 2005;104:2499-507.
22. Shilling V, Jenkins V, Morris R, Deutsch G, Bloomfield D. The effects of adjuvant chemotherapy on cognition in women with breast cancer: preliminary results of an observational longitudinal study. *Breast*. 2005;14:142-50.
23. Mar Fan H, Houédé-Tchen N, Yi Q-L, Chemerynsky I, Downie FP, Sabate K, et al. Fatigue, menopausal symptoms and cognitive function in women following adjuvant chemotherapy for breast cancer: one and two year follow-up of a prospective controlled study. *J Clin Oncol*. 2005;23:8025-32.
24. Tannock IF, Ahles TA, Ganz PA, van Dam FS. Cognitive impairment associated with chemotherapy for cancer: report of a workshop. *J Clin Oncol*. 2004;22(11):2233-39.
25. Stewart A, Bielajew C, Collins B, Parkinson M, Tomiak E. A meta-analysis of the neuropsychological effects of adjuvant chemotherapy treatment in women treated for breast cancer. *Clin Neuropsychol*. 2006;20(1):76-89.
26. Vardy J, Rourke S, Tannock IF. Evaluation of Cognitive Function Associated with Chemotherapy: A Review of Published Studies and Recommendations for Future Research. *J Clin Oncol*. 10. Jun 2007, Bd. 25(17), S. 1-9.
27. Shilling V, Jenkins V, Trapala IS. The (mis)classification of chemo-fog-methodological inconsistencies in the investigation of cognitive impairment after chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. Jan 2006;95(2):125-9.
28. Ahles TA, Saykin AJ. Candidate mechanisms for chemotherapy-induced cognitive changes. *Nat Rev Cancer*. 2007 Mar;7(3):192-201.
29. Dietrich J, Han R, Yang Y, Mayer-Proschel M, Noble M. CNS progenitor cells and oligodendrocytes are targets of chemotherapeutic agents in vitro and in vivo. *J Biol*. 2006 Nov;5(7):22.
30. MacLeod JE, DeLeod JA, Hickey WF, Ahles TA, Saykin AJ, Bucci, DJ. Cancer chemotherapy impairs contextual but not cue-specific fear memory. *Behav Brain Res*. 2007 Jun;181(1):168-72.

31. Reiriz AB, Reolon GK, Roesler R. Cancer chemotherapy and cognitive Function in Rodent Models: Memory impairment induced by cyclophosphamide in mice. *Clin Cancer Res.* 2006;12(16):5000-1.
32. De Vita, VJ. *Cancer: Principles & Practice of Oncology.* 5th ed. San Diego: Lippincott;1995.
33. Fontes APS, César ET, Beraldo H. A Química Inorgânica na Terapia do Câncer. *Cadernos temáticos.* 2005 Jul;6(5):13-18.
34. Verstappen CC, Heimans JJ, Hoekman K, Postma TJ. Neurotoxic complications of chemotherapy in patients with cancer: clinical signs and optimal management. *Neurotoxic Complications of 2003. Drugs.* 2003;63(15):1549-63.
35. Cata JP, Weng HR, Dougherty PM. Behavioral and electrophysiological studies in rats with cisplatin-induced chemoneuropathy. *Brain Res.* 2008 Sep;1230:91-8.
36. Carozzi V, Chiorazzi A, Canta A, Oggioni N, Gilardini A, Rodriguez-Menendez V et al. Effect of the chronic combined administration of cisplatin and paclitaxel in a rat model of peripheral neurotoxicity. *Eur J Cancer.* 2008 Dec 15.
37. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso.* 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.
38. Izquierdo, I. *Memória.* Porto Alegre: Artmed; 2002.
39. Izquierdo I, Medina JH. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology for Learning and Memory.* 1997;68(3):285-316.

5 ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS

Neurophysiological Disorders Induced by Antineoplastic Agents in Animal Models: Cisplatin Chronic Administration Effects on Rats Development in a Fear Conditioning Task

Silvia Ramos Hecktheuer, MD¹; Gustavo Kellermann Reolon, Msc²; Natasha Maurmann, Msc³; Pedro Liedke, MD⁴; Bruno Killpp Goulart⁵; Gilberto Schwartsmann, MD, PhD⁶; Rafael Roesler, PhD⁷

1 Professora da Faculdade de Medicina da Universidade de Passo Fundo. Mestranda do PPG em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, UFRGS.

2 Doutorando do PPG em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

3 Doutoranda do PPG em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

4 Mestrando do PPG em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, UFRGS.

5 Doutorando do PPG em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

6 Professor do Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, UFRGS. Coordenador do Laboratório de Pesquisas em Câncer, Centro de Pesquisas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

7 Professor do Departamento de Farmacologia e Coordenador do Grupo de Pesquisa em Neurofarmacologia Celular e Molecular, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS. Coordenador do Laboratório de Pesquisas em Câncer, Centro de Pesquisas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Endereço para correspondência: Rafael Roesler, Departamento de Farmacologia Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Sarmiento Leite, 500 (ICBS, Campus Centro, UFRGS), 90046-900 Porto Alegre, RS, Brazil. Telefone: (0__51) 3308 3183; fax: (0__51) 3308 3121. *E-mail:* rroesler@terra.com.br.

ABSTRACT

Introduction: Cognitive function impairments have been described in patients with cancer who have received chemotherapeutic treatment. There is the need for characterizing cognitive effects of antineoplastic agents, using animal models of neurological function. **Objectives:** The possible effects of cisplatin on rats neurobehavioral function were investigated, using the fear conditioning model. **Methods:** Wistar adult male rats were trained in the inhibitory avoidance task (IA), a model of fear conditioning, and then tested 24 h and a week after it. Twenty min. before training, the animals received a systemic injection of cisplatin (0.1, 0.3 or 1.0 mg/kg, i.p.). The animals of the control group received a saline injection (NaCl 0.9%). The treatment with cisplatin did not affect the development in the training or retrieval measured 24 h after training, but induced the increase in the development measured a week after training. The cisplatin did not affect the behavior in an open field or habituation. **Conclusion:** the results suggest the possibility that a systemic administration of cisplatin induces a long-term memory facilitation.

Key-words: Cisplatin; Chemotherapy; Memory; Cognitive Function; Animal Models.

INTRODUCTION

Cognitive function impairments have been described in patients with cancer that have received chemotherapeutic treatment, especially in women with breast cancer. ⁽¹⁻⁶⁾ Chronic cognitive disorders are frequent, and some patients remain with long term impairments. ⁽⁵⁾ The detailed knowledge of neurofunctional disorders induced by antineoplastic agents, as well as the cerebral system and cellular mechanisms involved is fundamental to the search for prevention and protection strategies. Nevertheless, the clinical evaluation of the antineoplastic effects on the cognitive function, in patients, is complicated due to the great number of factors that likely interfere on the cerebral function, including administration concomitant with opiate analgesics, anti-emetic with com serotonergic action, steroidal anti-inflammatory, radiotherapy, besides possible neurologic and emotional disorders related to the disease itself ⁽⁵⁾.

Then, many authors have enlighten the need for animal models use for neurologic functions in protocols in which the experimental animals are exposed to citotoxic agents to detailed characterization of cognitive induced by chemotherapy with antineoplastic. Among the agents already evaluated, using this strategy, it is included cyclophosphamide ⁽⁷⁻⁸⁾, 5-

fluorouracil ⁽⁹⁾ and methotrexate ^(9,10). By using the conditioning fear, model known as inhibitory avoidance (IA), it has been shown by the group a previous study that chronic administration of cyclophosphamide has caused impairment in the emotional content memory formation in mice ⁽⁸⁾. Nevertheless, Lee et al. ⁽⁷⁾ has shown the transient facilitation in the synaptic plasticity and in the memory after the treatment with cyclophosphamide and 5-fluorouracil.

In this present study, cisplatin possible effects on neurobehavioral function of rats, using the IA model, has been investigated. This work differs from the one mentioned above ⁽¹²⁻¹⁵⁾ which also evaluate the effects of cisplatin in rodents, thus in that it has not been used this model. The results provide preliminary evidences of a possible late facilitatory effect of cisplatin on memory.

MATERIAL AND METHODS

EXPERIMENTAL ANIMALS

Male adults Wistar rats (250-370 g) obtained from the Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS-RS) were kept in groups of five animals per box, in an animal house, with controlled temperature and food and water *ad libitum*, with light/dark cycle of 12 h (light turning on at 7:00). Behavioral procedures were achieved between 10:00 and 17:00. All procedures were led according to *NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals (NIH No. 80-23 reviewed 1996)* and the protocols were approved by the Ethics Committee in Institutional Research (GPPG-HCPA). All efforts were carried out in order to reproduce the numbers of animals used and their discomfort.

PHARMACOLOGICAL TREATMENTS AND PROCEDURES

The animals have been submitted to a systemic injection intraperitoneal via (i.p.), of saline solution (NaCl 0.9%; control group) or cisplatin in dosages of 0.1, 0.3 or 1.0 mg/kg. The injections were administered 20min. before the animals had been exposed to open field and 24 hours after habituation has been carried out. The behavioral training, in the IA task, was accomplished seven days after the injections, where the first IA test (1 day retention) was achieved and a week after retention of seven days. The dosages used have been chosen based

on previous studies⁽¹¹⁻¹³⁾ Cisplatin solutions have been immediately prepared before the experiments.

NEUROBEHAVIORAL EVALUATION

Inhibitory Avoidance (IA). The task of IA is a well-established fear conditioning model for evaluation of pharmacological treatments effects on cognitive function in rodents. In this model, the animals learn how to associate a determined local in a conditioning box to a light shock administered in their paws. Test and training protocols of IA have been accomplished according to what has been described in previous studies^(8,14). IA apparatus was a conditioning Box made of acrylic, of 50 X 25 X 25 cm acrylic box (Albarsch, Porto Alegre, RS), which bottom was composed of a series of stainless steel parallel bars of 1 mm diameter separated by spaces of 1 cm. A platform of 7 cm width and 2.5 cm height was placed on the bottom together with the left wall of the box. In the training session, the animal was carefully placed on the platform and its latency to step down with its four paws to the grid, measured in seconds (s), was recorded by an automatic device. Soon after the animal has been dropped on the platform, it received a light shock on its paws of (0.5 mA, 2s). Test sessions for evaluation of memory retention of IA were accomplished 24 h and a week after training. The retention procedure was identical to the training, except that there was no shock administration. Latency of platform drop in the retention test was used as memory procedure.

Behavior in open Field and habituation. Behavior in open field is a well-established of evaluation of general neurological function in rodents. The protocol used has been described in previous studies⁽¹⁴⁾. The animals were placed in the left corner of an open field (wooden Box with frontal faced of glass of 45 x 40 x 60 cm), which bottom was divided into 12 equal squares by black lines drawn in the bottom. The exploration session lasts five min. in which the animal could freely explore the box. The number of crossings and direction answers (*rearings*) achieved by the animals (locomotion and exploration measurements), latency (s) to the beginning of exploration and the number of fecal bolus produced (anxiety characterization) were recorded. Twenty four hours after the first exploration session, the animals were replaced in the box for five min. and the number of crossings and answers of orientation fulfilled recorded and used as habituation measurement to open field (a way of non-associative memory).

STATITICAL ANALYSIS

The data have been shown as average \pm standard error. Comparisons of training and test latency in IA among groups have been achieved by means of variance Kruskal-Wallis followed by tests *U* of Mann-Whitney when appropriated, according to what has been described in previous studies ^(8,14). Other comparisons among groups have been accomplished with the variance analysis (ANOVA) of one via ⁽¹⁴⁾. In all comparisons, values of $p < 0.05$ have indicated significant differences.

RESULTS

INHIBITORY AVOIDANCE

The results obtained in the IA task are shown in Figure 1. Cisplatin pre-training administration did not cause significant changes in the development of animals in the training ($H=2.87$, $df=3$, $p=0.41$) nor in the retention memory of the IA evaluated 24 h after ($H=2.28$, $df=3$, $p=0.52$). Nevertheless, when retention was evaluated a week after the training, the animals treated with cisplatin in the dosages of 0.1 or 1.0 mg/kg showed a significant increase in the latency of the bottom drop ($p < 0.05$), while the intermediate dosage (0.3 mg/kg) did not produce significant effects ($p=0.18$).

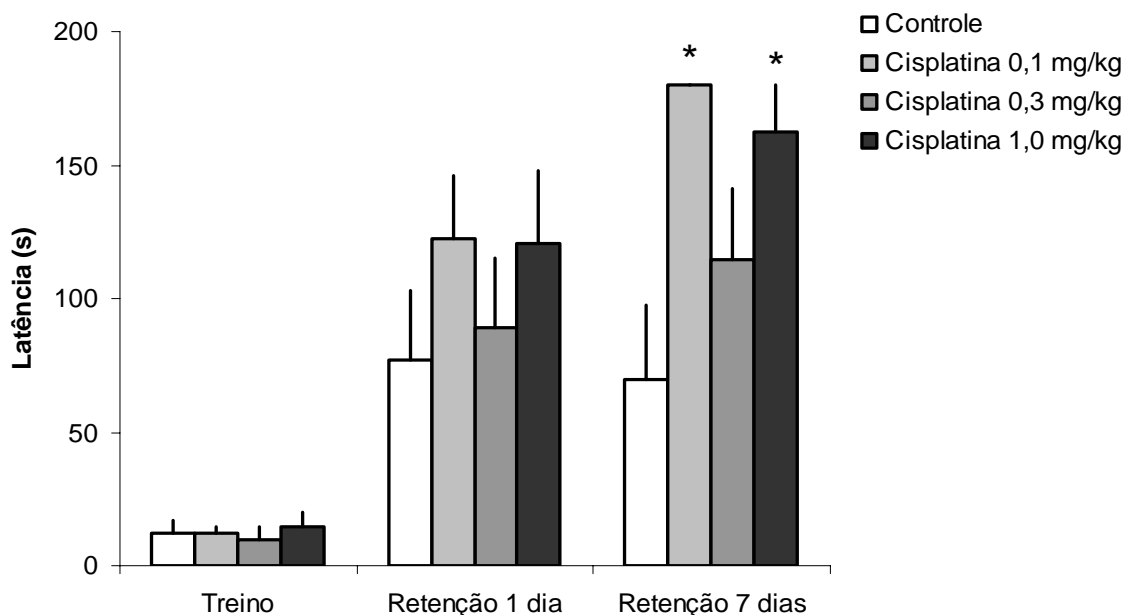


Figure 1 – Effects of cisplatin systemic injection (0.1, 0.3 or 1.0 mg/kg, i.p.), one week before training on the retention of the inhibitory avoidance (AI) identified by the latency to the bottom drop (s) and evaluated 24 h (1 day) and one week after training, in rats. n=8-10 animals per group; * $p < 0.05$ in comparison with the control group treated with saline (SAL).

BEHAVIOR IN OPEN FIELD AND HABITUATION

Cisplatin administration 20 min before exploration to open Field did not change in such a significant manner the animals' behavior. There were no significant differences in the number of crossings ($F=0.33$, $df=3$, $p=0.81$), orientation answers ($F=0.41$, $df=3$, $p=0.75$), latency to start the movement ($F=0.63$, $df=3$, $p=0.61$) or number of fecal boli ($F=0.41$, $df=3$, $p=0.75$). Also, there were no differences between the groups in the number of crossings ($F=0.69$, $df=3$, $p=0.57$) and orientation answers ($F=0.17$, $df=3$, $p=0.91$) accomplished 24 h after the first exploration of open field, indicating that cisplatin administration did not affect the habituation in open field (Table 1)

Behavior in open field					
<i>Group</i>	<i>n</i>	<i>Crossings</i>	<i>Rearings</i>	<i>Latency (s)</i>	<i>Defecation</i>
Control	5	79.0 ± 15.1	35.4 ± 7.0	5.0 ± 2.0	4.0 ± 1.0
Cisplatin 0.1 mg/kg	5	73.6 ± 6.2	31.4 ± 2.3	4.0 ± 1.0	2.0 ± 1.0
Cisplatin 0.3 mg/kg	5	65.6 ± 3.5	36.6 ± 3.8	3.0 ± 1.0	3.0 ± 1.0
Cisplatin 1.0 mg/kg	5	72.2 ± 9.5	41.4 ± 9.9	3.0 ± 0.0	4.0 ± 1.0
Habituation in open field					
<i>Group</i>	<i>n</i>	<i>Crossings</i>	<i>Rearings</i>		
Control	5	50.6 ± 9.2	14.2 ± 2.9		
Cisplatin 0.1 mg/kg	5	41.0 ± 7.7	16.2 ± 3.4		
Cisplatin 0.3 mg/kg	5	35.4 ± 14	13.2 + 6.0		
Cisplatin 1.0 mg/kg	5	53.9 ± 9.0	16.8 + 3.2		

Table 1 – Behavior in open Field and habituation in rats treated with a systemic injection of cisplatin (0.1, 0.3 or 1.0 mg/kg, i.p.) 20 min before the first session of exploration in open field. There were no significant differences between the groups.

DISCUSSION

A number increasingly greater of studies have tried to detect and characterize changes in the cognitive function related to treatments with antineoplastic agents, using rodent models of behavior and memory⁽⁷⁻¹⁰⁾. The main motivation to the accomplishment of these studies is the concern about cognitive disorders observed in patients with cancer submitted to chemotherapy⁽¹⁻⁶⁾. Several mechanisms have been proposed to explain these changes, including the reduction in the hormone levels such as estrogen and testosterone, rupture of the blood-brain barrier, alterations in cytokines, injury to the DNA, shortening telomere and genetic susceptibility⁽¹⁵⁾. The memory animal models used in the evaluation of these processes in rats and mice include the aquatic labyrinth of Morris for special memory measurement^(9,10) and a fear conditioning model, including the IA^(7,8).

In the present study, it could be observed that, on the contrary to what would be predictable, based on clinic evidences, chronic administration of cisplatin did not produce any injurious effect on the neurobehavioral function examined, using the IA and the behavior in open field in rats. On the contrary, the administration of the lowest and highest dosages of cisplatin induced an increase in the IA latency tested a week after the training, suggesting a facilitation of long-term memory. A cognitive facilitation induced by anticancer chemotherapy in rats would be consistent with the results described by Lee et al.⁽⁷⁾, indicating that the cyclophosphamide and 5-fluorouracil produced a late facilitation in the synaptic plasticity in the hippocampus and in the fear conditioning memory evaluated between 7 and 29 weeks after the end of the treatment in rats. Thus, the data of this study are in accordance with the possibility that, at least in some experimental conditions, the antineoplastic agents can lead to the memory facilitation.

It is not possible to discharge the possibility that a late effect on sensorial and motor parameters, such as locomotion and motivation have influenced on the development of the IA 7 days after training. For instance, a study of Cata et al.⁽¹²⁾ has shown that, in certain conditions, some dosages of cisplatin can provoke hyperalgesia. This phenomenon could explain the best performance of the rats treated in the IA task, once it would maximize the effect of the electrical stimulus. Therefore, the authors have indicated that this occurs in the dosage of 0.5 mg/kg only, and it starts from the second day after chemotherapy administration and ceases from the seventh day. In any case, additional experiments are needed to control these factors. Nevertheless, the dosage-answer pattern in U of the cisplatin answer on the memory observed in this study, which is quite common for pharmacological treatments, which regulate

memory consolidation, suggest that the effect observed can be specific to a memory formation and not a neurotoxic late effect of the treatment.

CONCLUSION

The results of this study have provided preliminary evidences that cisplatin can induce facilitation in long-term emotional memory formation in an animal model. Therefore, additional studies are necessary to determine if sensorial alterations or other factors could have influenced on the results.

REFERENCES

1. Brezden CB, Phillips KA, Abdoell M, Bunston T, Tannock IF. Cognitive function in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2000;18:2695-01.
2. Falletti MG, Sanfilippo A, Maruff P, Weih L, Phillips KA. The nature and severity of cognitive impairment associated with adjuvant chemotherapy in women with breast cancer: a meta-analysis of the current literature. *Brain Cogn.* 2005;59:60-70.
3. Fan HG, Houédé-Tchen N, Yi QL, Chemerynsky I, Downie FP, Sabate K, Tannock IF. Fatigue, menopausal symptoms, and cognitive function in women after adjuvant chemotherapy for breast cancer: 1- and 2-year follow-up of a prospective controlled study. *J Clin Oncol.* 2005;23:8025-32.
4. Schagen SB, Hamburger HL, Muller MJ, Boogerd W, van Dam FS. Neurophysiological evaluation of late effects of adjuvant high-dose chemotherapy on cognitive function. *J Neuro-Oncol.* 2001;51:159-65.
5. Tannock IF, Ahles TA, Ganz PA, Van Dam FS. Cognitive impairment associated with chemotherapy for cancer: report of a workshop. *J Clin Oncol.* 2004;22:2233-9.
6. van Dam FS, Schagen SB, Muller MJ, Boogerd W, vd Wall E, Droogleever Fortuyn ME, Rodenhuis S. Impairment of cognitive function in women receiving adjuvant treatment for high-risk breast cancer: high-dose versus standard-dose chemotherapy. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90: 210-8.

7. Lee GD, Longo DL, Wang Y, Rifkind JM, Abdul-Raman L, Mamczarz JA, Duffy KB, Spangler EL, Taub DD, Mattson MP, Ingram DK. Transient improvement in cognitive function and synaptic plasticity in rats following cancer chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2006;12:198-205.
8. Reiriz AB, Reolon GK, Preissler T, Rosado JO, Henriques JA, Roesler R, Schwartzmann G. Cancer chemotherapy and cognitive function in rodent models: memory impairment induced by cyclophosphamide in mice. *Clin Cancer Res.* 2006;12:5000-1.
9. Winocur G, Vardy J, Binns MA, Kerr L, Tannock I. The effects of the anti-cancer drugs, methotrexate and 5-fluorouracil, on cognitive function in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2006. 85:66-75.
10. Seigers R, Schagen SB, Beerling W, Boogerd W, van Tellingen O, van Dam FS, Koolhaas JM, Buwalda B. Long-lasting suppression of hippocampal cell proliferation and impaired cognitive performance by methotrexate in the rat. *Behav Brain Res.* 2008;186:168-75.
11. Carozzi V, Chiorazzi A, Canta A, Oggioni N, Gilardini A, Rodriguez-Menendez V, Avezza F, Crippa L, Ceresa C, Nicolini G, Bossi M, Cavaletti G. Effect of the chronic combined administration of cisplatin and paclitaxel in a rat model of peripheral neurotoxicity. *Eur J Cancer.* 2008; in press.
12. Cata JP, Weng HR, Dougherty PM. Behavioral and electrophysiological studies in rats with cisplatin-induced chemoneuropathy. *Brain Res.* 2008;1230:91-8.
13. Ju C, Hamaue N, Machida T, Liu Y, Iizuka K, Wang Y, Minami M, Hirafuji M. Anti-inflammatory drugs ameliorate opposite enzymatic changes in ileal 5-hydroxytryptamine metabolism in the delayed phase after cisplatin administration to rats. *Eur J Pharmacol.* 2008;589:281-7.
14. Picada JN, Schröder N, Izquierdo I, Henriques JA, Roesler R. Differential neurobehavioral deficits induced by apomorphine and its oxidation product, 8-oxo-apomorphine-semiquinone, in rats. *Eur J Pharmacol.* 2002 443:105-11.
15. Ahles TA, Saykin AJ. Candidate mechanisms for chemotherapy-induced cognitive changes. *Nat Rev Cancer* 2007;7:192-201.

AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro: Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; número 477775/2006-3 concedido a R.Roesler); South American Office for Anticancer Drug Development (Fundação SOAD de Pesquisa do Câncer) e Instituto do Câncer Infantil do Rio Grande do Sul.

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Com o presente estudo, buscou-se investigar o efeito dos quimioterápicos sobre a função cognitiva. Como foi apresentado na revisão de literatura, as pesquisas com seres humanos sugerem que a quimioterapia traz algum grau de declínio cognitivo aos pacientes. Esse declínio é leve e envolve velocidade de processamento e memória, especialmente a de trabalho.

Entretanto, grande parte dos estudos mostram que esses prejuízos são reversíveis em longo prazo e podem variar de acordo com o quimioterápico e com a dose. Além disso, algumas vezes o impedimento cognitivo já é constatado em pacientes com câncer que ainda não foram submetidos à quimioterapia.

Na tentativa de relacionar a ação dos quimioterápicos ao declínio cognitivo, diversas pesquisas apontam possíveis mecanismos de ação. Os quimioterápicos teriam a capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica, mesmo em doses relativamente baixas, produzindo danos às células do SNC. Quimioterápicos podem estar associados ao aumento do estresse oxidativo, que causa danos ao DNA. Esses danos podem ser agravados por deficiências nos mecanismos de reparo do DNA e pelo encurtamento dos telômeros. Os antineoplásicos estão relacionados ao aumento dos níveis de citocinas, o qual aumenta a probabilidade de problemas cognitivos. Por outro lado, deficiências nos mecanismos de reparo neural, na liberação de neurotransmissores e a diminuição nos níveis de estrógeno e testosterona podem potencializar a ação dos quimioterápicos, permitindo que eles causassem danos estruturais e funcionais no cérebro, explicando seus efeitos sobre a cognição.

Mas a presente pesquisa buscou avaliar mais especificamente os efeitos de um agente antineoplásico específico, a cisplatina, sobre a aquisição e consolidação da memória aversiva em ratos na esQUIVA inibitória. A utilização de modelos animais torna-se uma necessidade devido aos problemas encontrados nas pesquisas em humanos. Nelas, fatores como o tipo de quimioterápico a ser utilizado, a dose e o tempo de tratamento, o tamanho da amostra, a amplitude do tempo de acompanhamento, o momento da avaliação e a sensibilidade dos testes neuropsicológicos, podem trazer dificuldades aos estudos.

As pesquisas utilizando modelos animais na avaliação do efeito dos quimioterápicos sobre a função cognitiva só iniciaram em 2006 com o trabalho de Lee et al. ⁽⁶⁾. Contrariando as expectativas, esse trabalho mostrou que ratos tratados com ciclofosfamida e 5-fluorouracil melhoram seu desempenho cognitivo em curto prazo, a qual retornou a níveis similares aos do

grupo controle em longo prazo. Nas pesquisas posteriores, em contraste, diversas formas de diminuição cognitiva foram constatadas. Mas, como na pesquisa de Lee et al., esses efeitos foram revertidos em longo prazo. Dessa forma, mesmo levando em conta as dificuldades para se determinar o efeito dos quimioterápicos sobre a cognição, há indícios de que eles são reversíveis.

Outra questão interessante diz respeito à dose. Aparentemente, doses menores causam menor comprometimento cognitivo. Entretanto, Dietrich et al. ⁽²⁹⁾ e Seigers et al. ⁽⁴⁾ sugeriram que mesmo doses abaixo das necessárias no tratamento de tumores podem ultrapassar a barreira hematoencefálica, afetando as células cerebrais.

O trabalho de Winocur et al. ⁽⁵⁾ revelou outro dado interessante. Avaliado diversas funções cognitivas pela utilização de testes comportamentais diferentes, os autores sugerem que o efeito dos quimioterápicos pode ser atribuído a mudanças funcionais em regiões específicas do cérebro. Acompanhando o que é sugerido por outros trabalhos, eles identificam o hipocampo e o lobo frontal como as estruturas mais afetadas.

Em relação à cisplatina, poucas pesquisas foram realizadas e nenhuma avaliando aprendizado e memória. As avaliações neurofisiológicas ⁽³⁵⁾ mostram que a nocicepção é afetada pela droga, mas o efeito depende da dose, e que ela causa hiperexcitabilidade nos neurônios de ampla faixa dinâmica da medula espinhal. Além disso, há indicações de que ocorre diminuição da condução nervosa e de que a cisplatina afeta os neurônios do gânglio da raiz dorsal.

No presente estudo, avaliou-se o desempenho cognitivo de ratos tratados com cisplatina na esQUIVA inibitória, em 24 horas e em 7 dias, e em um campo aberto. Os resultados revelaram uma facilitação da memória nas doses mais baixa (0,1 mg/kg) e mais alta (1 mg/kg), o que contraria as demais pesquisas, exceto à de Lee et al. ⁽⁶⁾, tanto na primeira avaliação quanto na segunda. Além disso, o tratamento parece não ter afetado a habituação em campo aberto. Isso sugere que a cisplatina pode melhorar o desempenho cognitivo em algumas situações experimentais específicas.

Levando em conta o achado de Cata et al. ⁽³⁵⁾, para os quais a cisplatina causou hiperalgesia, pode-se cogitar a possibilidade de este efeito estar associado ao incremento no desempenho que foi constatado neste trabalho. Entretanto, paradoxalmente, a dose associada à hiperalgesia nesse trabalho foi a de 0,5 mg/kg, próxima a de 0,3 mg/kg de nosso estudo, que esteve relacionada à menor facilitação na memória. Por outro lado, a dose de 1 mg/kg no trabalho dos autores causou hipoalgesia, o que justificaria uma diminuição do aprendizado. Entretanto, essa dose, no presente estudo, esteve associada a uma melhora no desempenho. De

qualquer forma, esses dados indicam que é necessário pesquisar o desempenho cognitivo levando em conta a ação nociceptiva da cisplatina.

Outro ponto que poderia ser discutido é a relação entre o tipo de função cognitiva ou mesmo de memória avaliado nos testes comportamentais, as funções e estruturas cerebrais associadas e o lugar e a forma de ação da cisplatina. Por exemplo, os estudos mostram que os quimioterápicos, inclusive a cisplatina, podem ter ação sobre o hipocampo. Assim, testes que avaliem memórias contextuais são os mais indicados, já que estas dependem em grande medida daquela estrutura. De qualquer forma, pesquisas avaliando os efeitos da cisplatina sobre tipos diferentes de memória parecem ser necessárias para esclarecer com mais detalhes a ação dessa droga.