

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação da interferência do diabetes na biodistribuição e na atividade
antitumoral da cisplatina em camundongos

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

Área de concentração: Toxicologia.

Orientada: Márcia Cristina da Silva Faria

Orientador: Antonio Cardozo dos Santos

Ribeirão Preto

2011

RESUMO

Faria, M.C.S. **Avaliação da interferência do diabetes na biodistribuição e na atividade antitumoral da cisplatina em camundongos.** 2011. 59f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

A cisplatina (Cis-diamino-dicloro-platina II) é um dos mais efetivos quimioterápicos, porém seu uso clínico é altamente limitado devido à sua nefrotoxicidade. Estudos sugerem que o diabetes atua como fator protetor contra a nefrotoxicidade da cisplatina, entretanto, os mecanismos envolvidos ainda não foram elucidados. Esta nefroproteção tem sido associada ao menor acúmulo de cisplatina nos rins, o que poderia ser atribuído a problemas no transporte ativo das células do túbulo proximal ou ainda a alterações farmacocinéticas provocadas pelo diabetes. Entretanto, não se sabe ainda se os mecanismos envolvidos na nefroproteção do diabetes interferem na atividade antitumoral da cisplatina. No presente estudo foram avaliados os efeitos do diabetes na nefrotoxicidade e na atividade antitumoral da cisplatina em camundongos portadores de sarcoma 180, divididos em 4 grupos (n=8): (i) C, grupo controle (sem tratamento); (ii) CIS, grupo tratado com cisplatina; (iii) DB, grupo diabético (estreptozotocina) e (iv) DB+CIS grupo diabético tratado com cisplatina. Os parâmetros avaliados foram: marcadores de função renal e de estresse oxidativo, histopatologia do tecido renal, desenvolvimento do tumor, sobrevida dos animais, genotoxicidade da cisplatina, concentração de platina nos órgãos e no tumor e marcadores de apoptose. Os resultados indicam que: (i) o diabetes protege contra o dano renal induzido pela cisplatina (ii) o diabetes altera a biodistribuição da cisplatina no tumor, nos rins e em vários órgãos; (iii) o diabetes diminui a atividade antitumoral da cisplatina. Os dados obtidos são relevantes, dada a prevalência de certos tipos de tumores em pacientes diabéticos e a importância da cisplatina na quimioterapia e, portanto, podem indicar a necessidade de uma maior atenção no tratamento anticâncer de pacientes diabéticos.

Palavras Chave: cisplatina, diabetes, nefroproteção, estresse oxidativo, atividade antitumoral

I. INTRODUÇÃO

1. Importância Clínica da Cisplatina

A cisplatina representa um dos mais marcantes avanços no tratamento do câncer. A sua descoberta foi accidental (ROSENBERG; VANCAMP; TROSKO *et al.*, 1969) e desde a sua aprovação pelo FDA (“American Food and Drug Administration”) em 1979, a cisplatina tem sido amplamente utilizada para o tratamento de uma variedade de tumores sólidos e hematológicos (SHERMANN; LIPPARD, 1987; PABLA; DONG, 2008). O uso clínico da cisplatina revolucionou o tratamento do câncer de testículos, elevando o percentual de cura de 20 para 95% (WANG; LIPPARD, 2005). É também comumente empregada no tratamento do câncer de ovário e de bexiga, sendo ainda um componente importante na quimioterapia empregada contra câncer de pulmão, cabeça e pescoço, pâncreas, mama, endométrio e esôfago (em conjunto com radioterapia), além de câncer cervical avançado, osteosarcomas e melanomas metastáticos, dentre outros. É ainda utilizada nos casos de tumores sólidos que não responderam ao tratamento padrão empregado. O seu efeito terapêutico poderia ser significativamente aumentado com o escalonamento da dose, porém a terapia com altas doses é limitada principalmente pela nefrotoxicidade (CVITKOVIC, 1998; HANIGAN; DEVARAJAN, 2003).

2. Mecanismo de ação da cisplatina

No meio intracelular, os íons cloreto da molécula da cisplatina se dissociam da platina sofrendo substituição por grupos hidroxila, devido à baixa concentração

de íons cloreto (3mM) comparativamente ao meio extracelular (145mM) (COHEN; LIPPARD, 2001). Esta hidrólise intracelular da cisplatina leva à formação de dois metabólitos carregados positivamente e altamente reativos: mono-cloro-mono-aqua-diamino-platina e diaquo-diamino-platina, devido à substituição de um ou dois íons cloreto, respectivamente. Estes metabólitos são capazes de alquilar bases púricas e pirimidínicas do DNA, formando ligações cruzadas intra e interfilamentares, o que gera distorções na dupla hélice do DNA e impede sua replicação. Este mecanismo tem sido associado ao efeito antineoplásico da cisplatina (ZWELLING; KOHN, 1979; LIPPARD, 1987; SHERMANN; LIPPARD, 1987; HALABE; WONG; SUTTON, 1991; EASTMAN, 1999; SCHENELLMANN, 2001).

3. Danos renais induzidos pela cisplatina

A cisplatina caracteriza-se por possuir baixo índice terapêutico e elevado potencial tóxico, sendo que dentre seus efeitos adversos, a nefrotoxicidade constitui a maior causa de morbidade e de mortalidade (CVITKOVIC, 1998; FAURSKOV; BJERREGAARD, 1999; KINTZEL, 2001; LEE; SONG; PARK *et al.*, 2001). O rim é o principal órgão de excreção da cisplatina e também o principal sítio de acúmulo do fármaco (SCHENELLMANN, 2001). A concentração de cisplatina em células do epitélio tubular proximal é cinco vezes maior do que sua concentração sérica (KUHLMANN; BURKHARDT; KOHLER, 1997). Apesar das intensas medidas profiláticas adotadas, tais como hidratação e diurese, cerca de 20% dos pacientes que recebem altas doses de cisplatina apresentam disfunção renal severa (YAO; PANICHPISAL; KURTZMAN *et al.*, 2007).

O mecanismo pelo qual a cisplatina produz danos celulares não é exatamente conhecido, mas sabe-se que envolve os seus metabólitos e está relacionado à lesão mitocondrial como já demonstrado em nossos estudos anteriores (SANTOS; CATAO; MARTINS *et al.*, 2007; MARTINS; SANTOS; CURTI *et al.*, 2008), bem como por outros autores (SCHENELLMANN, 2001; CULLEN; YANG; SCHUMAKER *et al.*, 2007). Vários estudos têm abordado as interações entre a cisplatina e o DNA nuclear, porém apenas aproximadamente 1% da cisplatina intracelular está ligada ao DNA nuclear, sendo que a maior parte da cisplatina intracelular disponível interage com sítios nucleofílicos de outras moléculas, incluindo proteínas de membrana, do citoesqueleto e do citosol, fosfolipídios, RNA e DNA mitocondrial (GONZALEZ; FUERTES; ALONSO *et al.*, 2001; FUERTESA; CASTILLAB; ALONSOA *et al.*, 2003).

4. Diabetes e Câncer

O diabete *mellitus* (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. É um importante problema de saúde pública, uma vez que é freqüente, está associado a complicações que comprometem a produtividade, qualidade de vida e sobrevida dos indivíduos, além de envolver altos custos no seu tratamento e das suas complicações (Consenso Brasileiro sobre Diabetes, 2002). Atualmente 250 milhões de pessoas convivem com o diabetes e estima-se que em 2030 serão 380 milhões de pessoas com DM no mundo. Para o Brasil a estimativa é de 11 milhões de pessoas com DM em 2030 (Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications., 1999).

Estudos recentes têm demonstrado que o risco de vários tumores sólidos e hematológicos (incluindo câncer de fígado, pâncreas, rins, bexiga, endometrial, de mama e linfoma não-Hodgkin's) é mais elevado em pacientes diabéticos (VIGNERI; FRASCA; SCIACCA *et al.*, 2009). Além disso, existe uma clara relação entre a diminuição da glicemia e a remissão de tumores malignos. (KRONE; ELY, 2005). Um estudo realizado em um modelo de câncer de mama em camundongos demonstrou que os maiores valores de glicemia estavam associados à maior mortalidade (SANTISTEBAN; ELY; HAMEL *et al.*, 1985).

5. Diabetes Mellitus e Nefroproteção

Sabe-se que os rins de ratos diabéticos são protegidos contra a toxicidade induzida por compostos nefrotóxicos estruturalmente diferentes, tais como gentamicina, cisplatina, cefaloridina, cloreto de mercúrio e o praguicida N- (3,5-diclorofenil) succinimida (TEIXEIRA; KELLEY; ALPERT *et al.*, 1982; SCOTT; MADAN; VALENTOVIC, 1989; SCOTT; MADAN; VALENTOVIC, 1990); entretanto, os mecanismos responsáveis por tal fenômeno ainda não foram elucidados (DNYANMOTÉ; SAWANT; LOCK *et al.*, 2006).

Esta resistência à toxicidade é claramente relacionada à duração e à gravidade do estado diabético, sendo pouco evidente após uma semana, e completa após seis semanas de diabetes descontrolado experimentalmente induzido por estreptozotocina. Observa-se este fenômeno de proteção tanto no diabetes insulina-dependente como no diabetes não dependente de insulina (SCOTT; MADAN; VALENTOVIC, 1989; CACINI; SINGH, 1991; CACINI; HARDEN; SKAU, 1993). Sabe-se ainda que o tratamento de ratos diabéticos com insulina não só elimina

completamente a proteção contra a nefrotoxicidade da cisplatina (após 21 dias de tratamento), como ainda é capaz de aumentar a susceptibilidade dos animais a tal efeito (SARANGARAJAN; CACINI, 2004). A atenuação da nefrotoxicidade induzida pela cisplatina em ratos diabéticos tem sido associada à diminuição do acúmulo renal de platina, o que por sua vez tem sido atribuído, em parte, a deficiências no transporte ativo do fármaco (CACINI; SINGH, 1991; SARANGARAJAN; CACINI, 1997). Um estudo de farmacocinética demonstrou uma diminuição significativa ($p<0,001$) nas concentrações plasmáticas da platina em ratos diabéticos quando comparados a ratos normoglicêmicos, 4 horas após a administração da cisplatina; porém nenhuma alteração significativa foi detectada após este período (NAJJAR; SAAD, 2001). Embora o estudo não tenha associado este evento precoce à nefroproteção (detectada 7 dias após), não se sabe ainda se esta diminuição inicial das concentrações plasmáticas da cisplatina implicaria ou não em alterações na biodistribuição e no efeito antitumoral do fármaco.

6. Modelos tumorais em camundongos (Sarcoma 180)

O sarcoma 180 foi descoberto em 1914, na região axilar de um camundongo albino na Universidade de Columbia e tem sido propagado para estudos desde 1919, sem alteração em suas características morfológicas. As células do sarcoma 180 crescem muito rapidamente, sendo que, com 7 dias de implantação subcutânea o tumor alcança aproximadamente 15 x 11 x 8 mm (SUGIURA; STOCK, 1952).

A inoculação de células S-180 (provenientes de tumor desenvolvido naturalmente em camundongos) é um modelo clássico indicado por institutos

regulamentadores e amplamente utilizado na avaliação de potenciais drogas anticâncer há muitos anos (FIELD, 1955; WANG; LEWIS; MITCHELL, 2008).

O modelo experimental original, utilizado nos primeiros estudos *in vivo* com a cisplatina por Rosenberg, na década de 70, envolveu a implantação do sarcoma 180 em camundongos. De acordo com os experimentos desenvolvidos, os animais tratados com uma dose única de cisplatina (8,0 mg/kg) no 8º dia após a implantação do tumor, apresentaram remissão completa do tumor no 6º dia após o início do tratamento (ROSENBERG et al., 1969). No presente estudo utilizamos o mesmo modelo animal utilizado por Rosenberg, porém associado ao diabetes experimentalmente induzido com estreptozotocina, o que nos permitiu avaliar as possíveis alterações causadas por esta doença na atividade antitumoral da cisplatina.

V. CONCLUSÕES

- ◆ O modelo experimental desenvolvido mostrou-se adequado para o estudo da atividade antitumoral da cisplatina em animais diabéticos e pode ser empregado em estudos com outros quimioterápicos;
- ◆ O efeito nefroprotetor do diabetes em relação à cisplatina foi comprovado em nosso modelo experimental pela melhora da função renal; diminuição da lipoperoxidação; diminuição da lesão histopatológica e pela diminuição da apoptose no grupo DB+CIS em comparação ao grupo CIS;
- ◆ A biodistribuição da cisplatina foi alterada pelo diabetes, como evidenciado pela menor concentração da platina em diferentes tecidos, inclusive no rim, no grupo DB+CIS em comparação ao grupo CIS, o que explica a nefroproteção exercida pelo diabetes;
- ◆ A atividade antitumoral da cisplatina foi afetada pelo diabetes como evidenciado pela menor sobrevida dos animais; menor remissão do tumor, menor concentração de platina no tumor e pela menor genotoxicidade no grupo DB+CIS em comparação ao grupo CIS.

Em resumo, nossos achados sugerem fortemente que a atividade antitumoral da cisplatina é afetada pelo diabetes, dado inédito na literatura científica.

Considerando-se a prevalência de certos tumores sólidos e hematológicos em pacientes diabéticos e a importância da cisplatina na quimioterapia do câncer até os dias atuais, os resultados do presente estudo são relevantes e sugerem a necessidade da reavaliação do tratamento anticâncer neste grupo particular de pacientes.

REFERÊNCIAS

ALI, B. H.; AL MOUNDHRI, M. S. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. **Food Chem Toxicol.** v. 44, n. 8, p. 1173-83, 2006.

APARECIDA RESENDE, F.; DE ANDRADE BARCALA, C. A.; DA SILVA FARIA, M. C.; KATO, F. H.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Antimutagenicity of ursolic acid and oleanolic acid against doxorubicin-induced clastogenesis in Balb/c mice. **Life Sci.** v. 79, n. 13, p. 1268-73, 2006.

ATTIA, S. M. The impact of quercetin on cisplatin-induced clastogenesis and apoptosis in murine marrow cells. **Mutagenesis.** v. 25, n. 3, p. 281-8.

ATTIA, S. M. The impact of quercetin on cisplatin-induced clastogenesis and apoptosis in murine marrow cells. **Mutagenesis.** v. 25, n. 3, p. 281-8, 2010.

BATISTA, B. L.; GROTTO, D.; RODRIGUES, J. L.; SOUZA, V. C.; BARBOSA, F., JR. Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. **Anal Chim Acta.** v. 646, n. 1-2, p. 23-9, 2009.

BOULAKIA, C. A.; CHEN, G.; NG, F. W.; TEODORO, J. G.; BRANTON, P. E.; NICHOLSON, D. W.; POIRIER, G. G.; SHORE, G. C. Bcl-2 and adenovirus E1B 19 kDa protein prevent E1A-induced processing of CPP32 and cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase. **Oncogene.** v. 12, n. 3, p. 529-35, 1996.

BROZOVIC, A.; AMBRIOVIC-RISTOV, A.; OSMAK, M. The relationship between cisplatin-induced reactive oxygen species, glutathione, and BCL-2 and resistance to cisplatin. **Crit Rev Toxicol.** v. 40, n. 4, p. 347-59, 2010.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol.** v. 52, p. 302-10, 1978.

CACINI, W.; HARDEN, E. A.; SKAU, K. A. Reduced renal accumulation and toxicity of cisplatin in experimental galactosemia. **Proc Soc Exp Biol Med.** v. 203, n. 3, p. 348-53, 1993.

CACINI, W.; SINGH, Y. Renal metallothionein and platinum levels in diabetic and nondiabetic rats injected with cisplatin. **Proc Soc Exp Biol Med.** v. 197, n. 3, p. 285-9, 1991.

CAIN, K.; SKILLETER, D. N. Preparation and use of mitochondria in toxicolgica resseach. In: K., S.; MULLOCK, B. (Ed.). *Biochemical Toxicology. A practical approach*. Oxford: IRL Press, 1987. Cap.9. p. 217-54.

CELIK, A.; OGENLER, O.; COMELEKOGLU, U. The evaluation of micronucleus frequency by acridine orange fluorescent staining in peripheral blood of rats treated with lead acetate. **Mutagenesis**. v. 20, n. 6, p. 411-5, 2005.

CHENG, E. H.; KIRSCH, D. G.; CLEM, R. J.; RAVI, R.; KASTAN, M. B.; BEDI, A.; UENO, K.; HARDWICK, J. M. Conversion of Bcl-2 to a Bax-like death effector by caspases. **Science**. v. 278, n. 5345, p. 1966-8, 1997.

CHINNAIYAN, A. M.; ORTH, K.; O'ROURKE, K.; DUAN, H.; POIRIER, G. G.; DIXIT, V. M. Molecular ordering of the cell death pathway. Bcl-2 and Bcl-xL function upstream of the CED-3-like apoptotic proteases. **J Biol Chem**. v. 271, n. 9, p. 4573-6, 1996.

COHEN, G. M. Caspases: the executioners of apoptosis. **Biochem J**. v. 326 (Pt 1), p. 1-16, 1997.

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

Consenso Brasileiro sobre Diabetes. Sociedade Brasileira de Diabetes, 2002.

CORNELISON, T. L.; REED, E. Nephrotoxicity and hydration management for cisplatin, carboplatin, and ormaplatin. **Gynecol Oncol**. v. 50, n. 2, p. 147-58, 1993.

CULLEN, K. J.; YANG, Z.; SCHUMAKER, L.; GUO, Z. Mitochondria as a critical target of the chemotherapeutic agent cisplatin in head and neck cancer. **J Bioenerg Biomembr**. v. 39, n. 1, p. 43-50, 2007.

CVITKOVIC, E. Cumulative toxicities from cisplatin therapy and current cytoprotective measures. **Cancer Treat Rev**. v. 24, n. 4, p. 265-81, 1998.

Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. *Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*: WHO - World Health Organization, 1999.

DEVARAJAN, P.; SAVOCA, M.; CASTANEDA, M. P.; PARK, M. S.; ESTEBAN-CRUCIANI, N.; KALINEC, G.; KALINEC, F. Cisplatin-induced apoptosis in auditory cells: role of death receptor and mitochondrial pathways. **Hear Res**. v. 174, n. 1-2, p. 45-54, 2002.

DNYANMOTE, A. V.; SAWANT, S. P.; LOCK, E. A.; LATENDRESSE, J. R.; WARBRITTON, A. A.; MEHENDALE, H. M. Diabetic mice are protected from normally lethal nephrotoxicity of S-1,2-dichlorovinyl-L-cysteine (DCVC): role of nephrogenic tissue repair. **Toxicol Appl Pharmacol.** v. 211, n. 2, p. 133-47, 2006.

EASTMAN, A. The mechanism of action of cisplatin: from adducts to apoptosis. In: LIPPERT, B. (Ed.). *Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug*. New York: Wiley-VCH, 1999. p. 111-35.

FAURSKOV, B.; BJERREGAARD, H. F. Effect of cisplatin of transepithelial resistance and transport in the A6 renal epithelial cell line. **Toxicol. In Vitro.** v. 13, p. 611-7, 1999.

FIELD, J. B. Tests of compounds against sarcoma 180 in a screening project in mice. **Cancer Res.** v. Suppl. 2, p. 3-52, 1955.

FRANCESCATO, H. D.; COSTA, R. S.; SCAVONE, C.; COIMBRA, T. M. Parthenolide reduces cisplatin-induced renal damage. **Toxicology.** v. 230, n. 1, p. 64-75, 2007.

FUERTESA, M. A.; CASTILLAB, J.; ALONSOA, C.; PEREZ, J. M. Cisplatin biochemical mechanism of action: from cytotoxicity to induction of cell death through interconnections between apoptotic and necrotic pathways. **Curr Med Chem.** v. 10, n. 3, p. 257-66, 2003.

GERAN, R. I.; GREENBERG, N. H.; McDONALD, M. M.; SCHUMACHER, A. M.; ABBOTT, B. J. Protocols for sceening chemical agents and natural products against animal tumor and other biological systems. **Cancer Chemoter Rep.** v. 3, n. 2, p. 1-66, 1972.

GOBE, G. Identification of apoptosis in kidney tissue sections. **Methods Mol Biol.** v. 466, p. 175-92, 2009.

GOLLAPUDI, B. B.; MCFADDEN, L. G. Sample size for the estimation of polychromatic to normochromatic erythrocyte ratio in the bone marrow micronucleus test. **Mutat Res.** v. 347, n. 2, p. 97-9, 1995.

GONZAGA, M. L.; BEZERRA, D. P.; ALVES, A. P.; DE ALENCAR, N. M.; MESQUITA RDE, O.; LIMA, M. W.; SOARES SDE, A.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 by an alpha-(1-->4)-glucan-beta-(1-->6)-glucan-protein complex polysaccharide obtained from Agaricus blazei Murill. **Nat Med (Tokyo).** v. 63, n. 1, p. 32-40, 2009.

GONZALEZ, V. M.; FUERTES, M. A.; ALONSO, C.; PEREZ, J. M. Is cisplatin-induced cell death always produced by apoptosis? **Mol Pharmacol.** v. 59, n. 4, p. 657-63, 2001.

GROVER, B.; AUBERGER, C.; SARANGARAJAN, R.; CACINI, W. Functional impairment of renal organic cation transport in experimental diabetes. **Pharmacol Toxicol.** v. 90, n. 4, p. 181-6, 2002.

HALABE, A.; WONG, N. L.; SUTTON, R. A. Effect of chronic cisplatin administration on phosphate and glucose transport by the renal brush border membrane. **Nephron.** v. 57, n. 2, p. 197-200, 1991.

HANADA, K.; ASANO, K.; NISHIMURA, T.; CHIMATA, T.; MATSUO, Y.; TSUCHIYA, M.; OGATA, H. Use of a toxicity factor to explain differences in nephrotoxicity and myelosuppression among the platinum antitumour derivatives cisplatin, carboplatin and nedaplatin in rats. **J Pharm Pharmacol.** v. 60, n. 3, p. 317-22, 2008.

HANIGAN, M. H.; DEVARAJAN, P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. **Cancer Ther.** v. 1, p. 47-61, 2003.

HAYASHI, M.; MORITA, T.; KODAMA, Y.; SOFUNI, T.; ISHIDATE, M., JR. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. **Mutat Res.** v. 245, n. 4, p. 245-9, 1990.

HENGARTNER, M. O. The biochemistry of apoptosis. **Nature.** v. 407, n. 6805, p. 770-6, 2000.

HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W. G.; STOREY, K. B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III)xylenol orange complex formation. **Free Radic Biol Med.** v. 19, n. 3, p. 271-80, 1995.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Anal Biochem.** v. 74, n. 1, p. 214-26, 1976.

HUGHES, J.; GOBE, G. Identification and quantification of apoptosis in the kidney using morphology, biochemical and molecular markers. **Nephrology (Carlton).** v. 12, n. 5, p. 452-8, 2007.

INADA, A.; KANAMORI, H.; ARAI, H.; AKASHI, T.; ARAKI, M.; WEIR, G. C.; FUKATSU, A. A model for diabetic nephropathy: advantages of the inducible cAMP early repressor transgenic mouse over the streptozotocin-induced diabetic mouse. **J Cell Physiol.** v. 215, n. 2, p. 383-91, 2008.

IRAZ, M.; OZEROL, E.; GULEC, M.; TASDEMIR, S.; IDIZ, N.; FADILLIOGLU, E.; NAZIROGLU, M.; AKYOL, O. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat. **Cell Biochem Funct.** v. 24, n. 4, p. 357-61, 2006.

JOY, J.; NAIR, C. K. Amelioration of cisplatin induced nephrotoxicity in Swiss albino mice by Rubia cordifolia extract. **J Cancer Res Ther.** v. 4, n. 3, p. 111-5, 2008.

KADIKOYLU, G.; BOLAMAN, Z.; DEMIR, S.; BALKAYA, M.; AKALIN, N.; ENLI, Y. The effects of desferrioxamine on cisplatin-induced lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rat kidneys. **Hum Exp Toxicol.** v. 23, n. 1, p. 29-34, 2004.

KANG, K. P.; PARK, S. K.; KIM, D. H.; SUNG, M. J.; JUNG, Y. J.; LEE, A. S.; LEE, J. E.; RAMKUMAR, K. M.; LEE, S.; PARK, M. H.; ROH, S. G.; KIM, W. Luteolin ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury in mice by regulation of p53-dependent renal tubular apoptosis. **Nephrol Dial Transplant.** v. 26, n. 3, p. 814-22, 2011.

KIM, J. Y.; LEE, S. H.; SONG, E. H.; PARK, Y. M.; LIM, J. Y.; KIM, D. J.; CHOI, K. H.; PARK, S. I.; GAO, B.; KIM, W. H. A critical role of STAT1 in streptozotocin-induced diabetic liver injury in mice: controlled by ATF3. **Cell Signal.** v. 21, n. 12, p. 1758-67, 2009a.

KIM, J. Y.; LEE, S. H.; SONG, E. H.; PARK, Y. M.; LIM, J. Y.; KIM, D. J.; CHOI, K. H.; PARK, S. I.; GAO, B.; KIM, W. H. A Critical Role of STAT1 in Streptozotocin-induced Diabetic Liver Injury in Mice: controlled by ATF3. **Cell Signal.** 2009b.

KINTZEL, P. E. Anticancer drug-induced kidney disorders. **Drug Saf.** v. 24, n. 1, p. 19-38, 2001.

KIRK, R. G.; GATES, M. E.; CHANG, C. S.; LEE, P. Distribution of cisplatin in bone marrow cells: quantitative X-ray imaging. **Exp Mol Pathol.** v. 63, n. 1, p. 33-40, 1995.

KIRSCH, D. G. D., A.; CHAU, B.N.; LIM, D.S.; DE SOUZA-PINTO, N.C.; HANSFORD, R.; KASTAN M.B.; LAZEBNIK, Y.A.; HARDWICK, J.M. . Caspase-3-dependent cleavage of Bcl-2 promotes release of cytochrome c. **Mol Pharmacol.**, v. 59, n. 4, p. 657-663, 2001.

KRONE, C. A.; ELY, J. T. Controlling hyperglycemia as an adjunct to cancer therapy. **Integr Cancer Ther.** v. 4, n. 1, p. 25-31, 2005.

KUHLMANN, M. K.; BURKHARDT, G.; KOHLER, H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. **Nephrol Dial Transplant.** v. 12, n. 12, p. 2478-80, 1997.

LEE, K. W.; JEONG, J. Y.; LIM, B. J.; CHANG, Y. K.; LEE, S. J.; NA, K. R.; SHIN, Y. T.; CHOI, D. E. Sildenafil attenuates renal injury in an experimental model of rat cisplatin-induced nephrotoxicity. **Toxicology.** v. 257, n. 3, p. 137-43, 2009.

LEE, R. H.; SONG, J. M.; PARK, M. Y.; KANG, S. K.; KIM, Y. K.; JUNG, J. S. Cisplatin-induced apoptosis by translocation of endogenous Bax in mouse collecting duct cells. **Biochem Pharmacol.** v. 62, n. 8, p. 1013-23, 2001.

LI, M.; BALAMUTHUSAMY, S.; KHAN, A. M.; MADERDRUT, J. L.; SIMON, E. E.; BATUMAN, V. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury. **Peptides.** v. 31, n. 4, p. 592-602, 2010.

LIPPARD, S. J. Chemistry and molecular biology id cisplatinum anticancer drugs. **Pure Appl. Chem.**, v. 59, p. 731-42, 1987.

LIU, X.; LI, P.; WIDLAK, P.; ZOU, H.; LUO, X.; GARRARD, W. T.; WANG, X. The 40-kDa subunit of DNA fragmentation factor induces DNA fragmentation and chromatin condensation during apoptosis. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v. 95, n. 15, p. 8461-6, 1998.

LU, Y.; CEDERBAUM, A. I. Cisplatin-induced hepatotoxicity is enhanced by elevated expression of cytochrome P450 2E1. **Toxicol Sci.** v. 89, n. 2, p. 515-23, 2006.

LUND, B. O.; MILLER, D. M.; WOODS, J. S. Studies on Hg(II)-induced H₂O₂ formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. **Biochem Pharmacol.** v. 45, n. 10, p. 2017-24, 1993.

MACGREGOR, J. T.; HEDDLE, J. A.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. F.; TICE, R. R.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutat Res.** v. 189, n. 2, p. 103-12, 1987.

MACGREGOR, J. T.; WEHR, C. M.; GOULD, D. H. Clastogen-induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: the basis of an improved micronucleus test. **Environ Mutagen.** v. 2, n. 4, p. 509-14, 1980.

MARTINS, N. M.; SANTOS, N. A.; CURTI, C.; BIANCHI, M. L.; SANTOS, A. C. Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. **J Appl Toxicol.** v. 28, n. 3, p. 337-44, 2008.

- MIGHELI, A.; ATTANASIO, A.; SCHIFFER, D. Ultrastructural detection of DNA strand breaks in apoptotic neural cells by *in situ* end-labelling techniques. **J Pathol.** v. 176, n. 1, p. 27-35, 1995.
- NAJJAR, T. A.; SAAD, S. Y. Cisplatin pharmacokinetics and its nephrotoxicity in diabetic rabbits. **Cancer Chemotherapy.** v. 47, n. 2, p. 128-35, 2001.
- PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. **Kidney Int.** v. 73, n. 9, p. 994-1007, 2008.
- PARK, M. S.; DE LEON, M.; DEVARAJAN, P. Cisplatin induces apoptosis in LLC-PK1 cells via activation of mitochondrial pathways. **J Am Soc Nephrol.** v. 13, n. 4, p. 858-65, 2002.
- RAZZAQUE, M. S.; KOJI, T.; KUMATORI, A.; TAGUCHI, T. Cisplatin-induced apoptosis in human proximal tubular epithelial cells is associated with the activation of the Fas/Fas ligand system. **Histochem Cell Biol.** v. 111, n. 5, p. 359-65, 1999.
- ROMMELAERE, G.; MICHEL, S.; MERCY, L.; FATTACCIOLI, A.; DEMAZY, C.; NINANE, N.; HOUBION, A.; RENARD, P.; ARNOULD, T. Hypersensitivity of mtDNA-depleted cells to staurosporine-induced apoptosis: roles of Bcl-2 downregulation and cathepsin B. **Am J Physiol Cell Physiol.** v. 300, n. 5, p. C1090-106, 2011.
- ROSENBERG, B. Fundamental studies with cisplatin. **Cancer.** v. 55, n. 10, p. 2303-16, 1985.
- ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature.** v. 222, n. 5191, p. 385-6, 1969.
- SALVESEN, G. S.; DIXIT, V. M. Caspases: intracellular signaling by proteolysis. **Cell.** v. 91, n. 4, p. 443-6, 1997.
- SANTISTEBAN, G. A.; ELY, J. T.; HAMEL, E. E.; READ, D. H.; KOZAWA, S. M. Glycemic modulation of tumor tolerance in a mouse model of breast cancer. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 132, n. 3, p. 1174-9, 1985.
- SANTOS, N. A.; BEZERRA, C. S.; MARTINS, N. M.; CURTI, C.; BIANCHI, M. L.; SANTOS, A. C. Hydroxyl radical scavenger ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. **Cancer Chemother Pharmacol.** v. 61, n. 1, p. 145-55, 2008.

SANTOS, N. A.; CATAO, C. S.; MARTINS, N. M.; CURTI, C.; BIANCHI, M. L.; SANTOS, A. C. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. **Arch Toxicol.** v. 81, n. 7, p. 495-504, 2007.

SARANGARAJAN, R.; CACINI, W. Effect of route of administration and dose on diabetes-induced protection against cisplatin nephrotoxicity. **Proc Soc Exp Biol Med.** v. 212, n. 4, p. 362-8, 1996.

SARANGARAJAN, R.; CACINI, W. Diabetes-induced protection from cisplatin nephrotoxicity is associated with impairment of energy-dependent uptake by renal cortex slices. **Pharmacol Toxicol.** v. 81, n. 4, p. 197-8, 1997.

SARANGARAJAN, R.; CACINI, W. Early onset of cisplatin-induced nephrotoxicity in streptozotocin-diabetic rats treated with insulin. **Basic Clin Pharmacol Toxicol.** v. 95, n. 2, p. 66-71, 2004.

SCHENELLMANN, R. G. Toxic responses of the kidney. In: KALASSEN, C. D. (Ed.). *Casarett & Doull's toxicology. The basic science of poisons*. New York: McGraw-Hill, 2001. Cap.14. p. 491-514.

SCOTT, L. A.; MADAN, E.; VALENTOVIC, M. A. Attenuation of cisplatin nephrotoxicity by streptozotocin-induced diabetes. **Fundam Appl Toxicol.** v. 12, n. 3, p. 530-9, 1989.

SCOTT, L. A.; MADAN, E.; VALENTOVIC, M. A. Influence of streptozotocin (STZ)-induced diabetes, dextrose diuresis and acetone on cisplatin nephrotoxicity in Fischer 344 (F344) rats. **Toxicology.** v. 60, n. 1-2, p. 109-25, 1990.

SHEIKH-HAMAD, D. Cisplatin-induced cytotoxicity: is the nucleus relevant? **Am J Physiol Renal Physiol.** v. 295, n. 1, p. F42-3, 2008.

SHERMANN, S. E.; LIPPARD, S. J. Structural aspects of platinum anticancer drug interaction with DNA. **Chem. Rev.**, v. 87, p. 1153-81, 1987.

SHI, Y. Mechanisms of Caspase Activation and Inhibition during Apoptosis. **Molecular Cell.** v. 9, p. 459-470, 2002.

SHIH, W.; HINES, W. H.; NEILSON, E. G. Effects of cyclosporin A on the development of immune-mediated interstitial nephritis. **Kidney Int.** v. 33, n. 6, p. 1113-8, 1988.

SHIRAI, M.; IZUMI, H.; YAMAGAMI, T. Experimental transplantation models of mouse sarcoma 180 in ICR mice for evaluation of anti-tumor drugs. **J Vet Med Sci.** v. 53, n. 4, p. 707-13, 1991.

SRINIVASAN, A.; FOSTER, L. M.; TESTA, M. P.; ORD, T.; KEANE, R. W.; BREDESEN, D. E.; KAYALAR, C. Bcl-2 expression in neural cells blocks activation of ICE/CED-3 family proteases during apoptosis. **J Neurosci.** v. 16, n. 18, p. 5654-60, 1996.

STOCK, C. C.; CLARKE, D. A.; PHILIPS, F. S.; BARCLAY, R. K. Sarcoma 180 inhibition screening data. **Cancer Res.** v. Suppl. 2, p. 179-331, 1955.

STRATER, J.; GUNTHERT, A. R.; BRUDERLEIN, S.; MOLLER, P. Microwave irradiation of paraffin-embedded tissue sensitizes the TUNEL method for in situ detection of apoptotic cells. **Histochem Cell Biol.** v. 103, n. 2, p. 157-60, 1995.

SUEISHI, K.; MISHIMA, K.; MAKINO, K.; ITOH, Y.; TSURUYA, K.; HIRAKATA, H.; OISHI, R. Protection by a radical scavenger edaravone against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Eur J Pharmacol.** v. 451, n. 2, p. 203-8, 2002.

SUGIURA, K.; STOCK, C. C. Studies in a tumor spectrum. I. Comparison of the action of methylbis (2-chloroethyl)amine and 3-bis(2-chloroethyl)aminomethyl-4-methoxymethyl -5-hydroxy-6-methylpyridine on the growth of a variety of mouse and rat tumors. **Cancer.** v. 5, n. 2, p. 382-402, 1952.

TADAGAVADI, R. K.; REEVES, W. B. Endogenous IL-10 attenuates cisplatin nephrotoxicity: role of dendritic cells. **J Immunol.** v. 185, n. 8, p. 4904-11, 2010.

TEIXEIRA, R. B.; KELLEY, J.; ALPERT, H.; PARDO, V.; VAAMONDE, C. A. Complete protection from gentamicin-induced acute renal failure in the diabetes mellitus rat. **Kidney Int.** v. 21, n. 4, p. 600-12, 1982.

TESCH, G. H.; NIKOLIC-PATERSON, D. J. Recent insights into experimental mouse models of diabetic nephropathy. **Nephron Exp Nephrol.** v. 104, n. 2, p. e57-62, 2006.

TUDOR, G.; AGUILERA, A.; HALVERSON, D. O.; LAING, N. D.; SAUSVILLE, E. A. Susceptibility to drug-induced apoptosis correlates with differential modulation of Bad, Bcl-2 and Bcl-xL protein levels. **Cell Death Differ.** v. 7, n. 6, p. 574-86, 2000.

VIGNERI, P.; FRASCA, F.; SCIACCA, L.; PANDINI, G.; VIGNERI, R. Diabetes and cancer. **Endocr Relat Cancer.** 2009.

WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nat Rev Drug Discov.** v. 4, n. 4, p. 307-20, 2005.

WANG, X.; LEWIS, T. J.; MITCHELL, D. The tumoricidal effect od sonodynamic therapy (SDT) on S-180 sarcoma in mice. **Integr. Cancer. Ther.**, v. 7, n. 2, p. 96-102, 2008.

WOHRL, W.; HACKER, G. Extent and limitation of the control of nuclear apoptosis by DNA-fragmenting factor. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 254, n. 3, p. 552-8, 1999.

YAO, X.; PANICHPISAL, K.; KURTZMAN, N.; NUGENT, K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. **Am J Med Sci.** v. 334, n. 2, p. 115-24, 2007.

ZHAN, Y.; VAN DE WATER, B.; WANG, Y.; STEVENS, J. L. The roles of caspase-3 and bcl-2 in chemically-induced apoptosis but not necrosis of renal epithelial cells. **Oncogene.** v. 18, n. 47, p. 6505-12, 1999.

ZHOU, H.; KATO, A.; YASUDA, H.; ODAMAKI, M.; ITOH, H.; HISHIDA, A. The induction of heat shock protein-72 attenuates cisplatin-induced acute renal failure in rats. **Pflugers Arch.** v. 446, n. 1, p. 116-24, 2003.

ZWELLING, L. A.; KOHN, K. W. Mechanism of action of cis-dichlorodiammineplatinum(II). **Cancer Treat Rep.** v. 63, n. 9-10, p. 1439-44, 1979.