

Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: Mecanismos moleculares

Acute nephrotoxicity of cisplatin: Molecular mechanisms

AutoresLuis Alberto Batista Peres¹
Ademar Dantas da Cunha
Júnior²¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE).
Faculdade Assis Gurgacz -
Cascavel - PR.² Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE).
Hospital do Câncer de
Cascavel/União Oeste de
Estudos e Combate ao Câncer
(UOPECCAN).**RESUMO**

As drogas nefrotóxicas são responsáveis por aproximadamente 20% dos episódios de IRA em pacientes internados e ambulatoriais. A nefrotoxicidade pela cisplatina é um dos principais fatores limitantes em até 20% dos pacientes que recebem a droga, ocasionando lesões em células do epitélio tubular renal. A toxicidade da cisplatina é determinada pelo tecido-alvo e acúmulo nas células, além da interação com diversas estruturas subcelulares e com macromoléculas. A cisplatina se acumula e interfere com o funcionamento de diferentes organelas, tais como: mitocôndrias, lisossomas, retículo endoplasmático, núcleo e membrana celular, gerando inflamação e morte celular. Esta revisão tem como objetivo definir as bases fisiopatológicas e bioquímicas da nefrotoxicidade da cisplatina, revisando os principais mecanismos moleculares que levam à toxicidade tubular da cisplatina.

Palavras-chave: lesão renal aguda, quimioterapia, toxicidade aguda.

ABSTRACT

The nephrotoxic drugs have been responsible for about 20% of AKI episodes in inpatients and outpatients. The cisplatin nephrotoxicity is a major limiting factor in 20% of patients who have received the drug, triggering injuries in renal tubular epithelial cells. Cisplatin toxicity is determined by the target tissue and cells accumulation besides the interaction with various subcellular structures and macromolecules. Cisplatin accumulates and interferes with the functioning of different organelles such as mitochondria, lysosomes, endoplasmic reticulum, nuclei and cell membranes, causing inflammation and cell death. This review aims to define the pathophysiology and biochemistry of the cisplatin nephrotoxicity, reviewing the main molecular mechanisms that lead to tubular cisplatin toxicity.

Keywords: acute kidney injury, acute toxicity, cisplatin.

INTRODUÇÃO

Drogas nefrotóxicas causam aproximadamente 20% dos episódios de injúria renal aguda (IRA) em pacientes internados e ambulatoriais. Entre adultos idosos, a incidência da nefrotoxicidade por drogas pode ser tão alta quanto 66%. A cisplatina (cis-diamminedichloroplatinum (II), CDDP) é uma droga antineoplásica, que faz parte da maioria dos regimes de quimioterapia para tumores sólidos ou hematológicos, cuja atividade antineoplásica foi acidentalmente descoberta pelo biofísico Barnett Rosenberg, mas sua nefrotoxicidade é um dos principais fatores limitantes em até 20% dos pacientes

que recebem a droga. Enquanto a maioria dos agentes antineoplásicos que atuam como alquilantes causam danos exclusivamente ao DNA das células de rápido crescimento, a cisplatina também pode causar danos consideráveis para as células relativamente quiescentes do túbulo proximal renal. O uso da cisplatina é limitado por resistência das células tumorais e por graves efeitos adversos, tais como nefrotoxicidade, ototoxicidade, neurotoxicidade e alto poder emetogênico.¹⁻³

A nefrotoxicidade da cisplatina é atribuída a dois fatores principais, o primeiro às altas concentrações de cisplatina nos rins e o segundo à interferência no sistema de transporte renal. A cisplatina é

Data de submissão: 25/09/2012.

Data de aprovação: 13/08/2013.

Correspondência para:Luis Alberto Batista Peres.
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE.
Rua Vicente Machado, nº 2687,
Jardim Vitória. Cascavel, PR,
Brasil. CEP: 85813-250.
E-mail: peres@certo.com.br

DOI: 10.5935/0101-2800.20130052

predominantemente excretada pelos rins; sua excreção biliar e intestinal é mínima e, durante o processo de excreção renal, a droga é acumulada no órgão e mesmo níveis não tóxicos no sangue podem chegar a níveis tóxicos nos rins. A concentração de cisplatina nas células tubulares epiteliais é cinco vezes mais alta que no sangue, sendo que a toxicidade renal induzida pela cisplatina é dose-dependente e, conseqüentemente, limita o aumento das doses, que podem comprometer a eficácia do tratamento. Os efeitos tóxicos ocorrem primariamente nos túbulos proximais, particularmente nas células do epitélio tubular do segmento S-3, sendo os glomérulos e túbulos distais afetados tardiamente. A piora da função renal é encontrada em aproximadamente 25% a 35% dos pacientes tratados com uma simples dose de cisplatina com diminuição de 20% a 40% da filtração glomerular, clinicamente observada após 10 dias da infusão da droga, associada a aumento dos níveis de creatinina, diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG), hipomagnesemia e hipopotassemia.^{3,4}

Por outro lado, os efeitos tardios da cisplatina sobre a função renal não estão totalmente compreendidos, mas acredita-se que o tratamento com a droga pode conduzir à redução subclínica ou permanente da filtração glomerular em alguns pacientes.⁵

As bases fisiopatológicas da nefrotoxicidade da cisplatina têm sido estudadas nas últimas três décadas. Entretanto, as pesquisas mais recentes foram direcionadas ao entendimento dos mecanismos celulares e moleculares desta toxicidade. Esta toxicidade parece ser o resultado do acúmulo local da cisplatina dentro do túbulo proximal, conversão intracelular da droga para metabólitos tóxicos e danos resultantes através de vias múltiplas. O mecanismo fisiopatológico do dano tubular induzido pela cisplatina é complexo e envolve vários cenários que podem interagir entre eles: acúmulo da cisplatina mediada pelo transporte na membrana, conversão para nefrotoxina, dano ao DNA, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, resposta inflamatória, ativação de transdutores e mensageiros intracelulares e ativação de vias apoptóticas.³⁻⁵

FISIOPATOLOGIA E BIOQUÍMICA DA NEFROTOXICIDADE DA CISPLATINA

A fisiopatologia desta toxicidade pode ser agrupada dentro de quatro tipos de lesões. Entretanto, o conhecimento da interconexão entre os eventos

fisiopatológicos é crucial para o entendimento das síndromes renais causadas por esta droga. A cisplatina pode causar toxicidade tubular, a qual é manifestada frequentemente por alterações hidroeletrolíticas e insuficiência renal aguda por necrose tubular; dano vascular de artérias de tamanhos pequeno a médio; lesão glomerular, que são menos comuns que outras nefropatias e lesão intersticial secundária ao uso prolongado da cisplatina, podendo evoluir para a doença renal crônica.⁵

A seguir, nos deteremos nos principais mecanismos bioquímicos de toxicidade às células tubulares pela cisplatina, sendo este o principal mecanismo de lesão renal da droga.

LESÃO TUBULAR PELA CISPLATINA

O túbulo proximal perde o epitélio que favorece o fluxo de substâncias dentro de suas células. Este processo envolve a formação de urina concentrada, que também conduz ao aumento de toxinas potenciais no fluido tubular, assim ocorrendo difusão passiva de tóxicos dentro das células tubulares.⁵

No caso da cisplatina, em virtude do seu baixo peso molecular e por ser uma molécula neutra, ela é livremente filtrada no glomérulo e quase completamente recuperada na urina. Este processo resulta em entrada da droga nas células tubulares, chegando a altas concentrações nas células tubulares proximais do córtex renal interno e camada medular externa (segmento S3), sendo estes os locais mais atingidos pela cisplatina, podendo também ocorrer injúria no túbulo distal e coletor de maneira dose-dependente.^{6,7}

As vias de lesão propostas incluem: 1) Acúmulo de cisplatina mediada pela via de transporte; 2) Conversão metabólica da cisplatina em nefrotoxina e acúmulo em células renais; 3) Lesão do DNA; 4) Alterações do sistema de transporte Celular; 5) Disfunção mitocondrial; 6) Estresse oxidativo e nitrosativo; 7) Resposta inflamatória; 8) Ativação da família de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) e 9) Ativação de vias apoptóticas.

ACÚMULO DE CISPLATINA MEDIADA PELA VIA DE TRANSPORTE

A cisplatina entra nas células tubulares renais por difusão passiva ou difusão facilitada mediada por transportadores, que conduzem ao acúmulo desproporcional de cisplatina. Um transportador catiônico orgânico (OCT) na face basolateral foi identificado como o principal responsável pela

entrada celular da cisplatina, podendo determinar a farmacocinética e a gravidade dos efeitos adversos, incluindo a nefrotoxicidade.⁸ Foram identificadas três isoformas de OCT em humanos, a OCT2 é o principal OCT nos rins, OCT1 é a principal isoforma no fígado, e o OCT3 é expresso especialmente na placenta. Em ratos, o OCT1 foi o principal tipo de transportador observado no túbulo contorcido proximal (S1) e túbulo reto proximal (S2), com baixa expressão nos túbulos retos medulares (S3), onde OCT2 foi principalmente expresso nos segmentos S2 e S3. O OCT2 é um transportador crítico e determinante na entrada e citotoxicidade de cisplatina nos túbulos proximais, aumentando o acúmulo renal da droga. Recentes estudos demonstraram que ratos deficientes de OCT1/OCT2 são protegidos do dano tubular induzido pela cisplatina. É digno de nota que a cisplatina não interage com o OCT1, que ajudaria a explicar sua toxicidade órgão e célula-específica. Além disso, a alta afinidade do transportador de cobre (CTR1) é também expresso na face basolateral dos túbulos proximais. *Downregulation* da expressão do CTR1 em células renais *in vitro* diminuiu tanto a captação da cisplatina quanto a citotoxicidade, sugerindo que o CTR1 é um mecanismo importante de absorção da cisplatina nestas células. O papel do CTR1 na nefrotoxicidade da cisplatina *in vivo* ainda não foi examinado.^{5,8,9}

CONVERSÃO METABÓLICA DA CISPLATINA EM NEFROTOXINA E ACÚMULO EM CÉLULAS RENAIAS

Uma vez que a cisplatina foi administrada intravenosamente ao paciente, ela rapidamente se difunde aos tecidos e é fortemente ligada às proteínas do plasma, que resulta da forte reatividade da platina com grupos de tiol de aminoácidos, tais como cisteína. Assim, próximo de 90% da platina no sangue está ligada à albumina e outras proteínas do plasma, conduzindo à inativação de uma grande quantidade de moléculas de cisplatina. A perda dos grupos de cloreto da molécula de cisplatina é necessária antes da ligação ao DNA. Fora da célula, a concentração de cloreto é de cerca de 100 mM e no interior da célula a concentração de cloreto está entre 20 a 30 mM, ocorrendo a hidratação da cisplatina; conseqüentemente, as moléculas de água substituem um ou dois grupos de cloreto, resultando na formação do $[Pt(H_2O)Cl(NH_3)_2]^+$ e $[Pt(H_2O)_2(NH_3)_2]^2+$ cátions. Estas espécies originam moléculas carregadas positivamente, que facilmente

reagem com o DNA nuclear com formação de ligações covalentes com bases de purinas, principalmente na posição N7, resultando em ligações cruzadas 1,2-intracadeias, que são os principais responsáveis pelos efeitos genotóxicos da cisplatina.^{3,10}

Os íons de platina carregados positivamente são mais tóxicos em células renais que o composto parenteral, ligando-se aos componentes do DNA, RNA e proteínas. Estas ligações cruzadas entre o DNA e a cisplatina conduzem ao comprometimento da replicação e transcrição, resultando em parada do ciclo celular e apoptose.^{3,10}

Wainford *et al.*¹¹ sugerem que a enzima intracelular gama-glutamiltanspeptidase (GGT) tenha um papel no metabolismo da cisplatina como nefrotoxina devido à enzima clivar o conjugado de cisplatina com a glutatona reduzida em metabólico tóxico.

LESÃO DO DNA

A cisplatina exerce sua atividade citotóxica pela formação de ligações cruzadas entre e dentro das cadeias no DNA genômico renal. O grau de “platinação” é mais comumente associado à entrada da cisplatina no núcleo celular seguido pelo acúmulo da droga. A ligação platina-DNA gera “adutos”, ou novos compostos que ativam várias respostas celulares, incluindo a sinalização do dano ao DNA, pontos de checagem do ciclo celular, reparo do DNA e morte celular.¹²

As formas hidratadas da cisplatina facilmente reagem com o DNA nuclear, formando ligações covalentes com bases purínicas, primariamente na posição N7, resultando em ligações cruzadas 1,2-intracadeias, que são as principais responsáveis pelos efeitos genotóxicos da cisplatina. Estas ligações cruzadas entre DNA e cisplatina conduzem a um prejuízo da replicação e transcrição, resultando na parada do ciclo celular e, eventualmente, apoptose.¹³ O alvo da apoptose causando dano ao DNA é mediado pelo gene supressor de tumor, chamado p53, que ativa genes pró-apoptóticos e reprime genes antiapoptóticos. As células em divisão celular são particularmente sensíveis à lesão do DNA, e a atividade antineoplásica da cisplatina tem sido principalmente atribuída à formação de adutos de DNA. Entretanto, alguns estudos sugerem que a formação de adutos de DNA nuclear pode não ser o único determinante do efeito farmacológico da cisplatina e que o DNA mitocondrial pode ser o mais comum alvo de ligação

da cisplatina, consequente à sua pobreza de reparação. Em homens adultos, as células do túbulo proximal não se dividem; consequentemente, a formação de adutos de DNA pode não ter um papel principal na nefrotoxicidade da cisplatina. Além do DNA nuclear e mitocondrial, a cisplatina atinge outros componentes celulares, tais como RNA, proteínas e fosfolípidios; além destes, outros mecanismos têm sido associados com os efeitos nefrotóxicos da cisplatina em células renais saudáveis. O dano oxidativo e a inflamação poderiam explicar seus efeitos em outros constituintes celulares que estão associados à toxicidade renal da cisplatina. Várias evidências indicam que a nefrotoxicidade da cisplatina está principalmente associada às espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas na mitocôndria.^{4,12-14}

Foi sugerido que a cisplatina conjuga-se com a glutathione reduzida (GSH) no fígado e chega ao rim como conjugado de cisplatina-GSH, o qual é clivado a um metabólito tóxico principalmente pela ação da gama-glutamyltranspeptidase (GGT), uma enzima localizada na borda em escova do túbulo proximal do rim. O metabólito formado é altamente reativo com os compostos tiol/platina que interagem com macromoléculas conduzindo eventualmente à morte das células renais.¹¹ A interferência desta biotransformação foi proposta como uma ação para prevenir a formação de metabólitos nefrotóxicos e, consequentemente, minimizar a nefrotoxicidade da cisplatina. Foi demonstrado que ratos deficientes em GGT foram resistentes aos efeitos nefrotóxicos da cisplatina. Estudos adicionais em ratos demonstraram que inibição da GGT com uma substância chamada acivicin protege-os contra a nefrotoxicidade da cisplatina. Foi constatada a participação de outras enzimas, tais como aminopeptidases N (AP-N), dipeptidase renal (RDP), e beta-liasecisteína-Sconjugase (C-S liase) nesta via tóxica.

A seguinte sequência foi proposta: após os conjugados de cisplatina-GSH serem secretados dentro do lúmen do túbulo proximal, estes são clivados pela GGT, formando um conjugado de cisteína-glicina e, então, são clivados pelas aminopeptidases de superfície celular, AP-N, RDP, para um conjugado de cisteína, o qual é então reabsorvido pelo túbulo proximal e finalmente metabolizado pela C-S liase a compostos tóxicos reativos de tiois resultando em nefrotoxicidade. A inibição da C-S liase com ácido amino-oxiacético protegeu ratos tratados com

15 mg/kg de cisplatina. De acordo com outro estudo, a inibição das enzimas AP-N, RDP e CS-liase não protegeram contra a nefrotoxicidade em ratos tratados com 10 mg/kg de cisplatina e/ou ratos tratados com 6 mg/kg cisplatina.^{11,15}

ALTERAÇÕES DO SISTEMA DE TRANSPORTE CELULAR

A nefrotoxicidade induzida pela cisplatina é caracterizada pela disfunção das células tubulares proximais renais. A cisplatina interfere com o transporte de água, nutrientes nas células tubulares renais, o qual é mediado por sistema de transportes de sódio na face apical e basolateral das células, tais como Na/K/ATPase, co-transportadores de Na/K/2Cl e do permutador tipo III do Na/H, e canais permeáveis à água incluindo aquaporinas 1, 2, e 3. A cisplatina inibiu a atividade dos transportadores na borda em escova tanto *in vivo* quanto *in vitro*. A lesão induzida pela cisplatina pode interferir na integridade do citoesqueleto e da polaridade celular, conduzindo a mudanças nos íons hidrogênio, magnésio, potássio e cálcio, contribuindo para menor reabsorção no túbulo proximal e distal, e aumento da excreção urinária destes íons. Além disso, a perda da barreira epitelial tubular e/ou junções entre as células viáveis durante a lesão tubular induzida pela cisplatina, poderia também conduzir ao retorno do filtrado glomerular à circulação, contribuindo para uma aparente diminuição na TFG.¹⁶

DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL

Várias linhas de evidência sugerem que a cisplatina acumula-se na mitocôndria das células renais, prejudicando a bioenergética mitocondrial, aumentando a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), diminuindo a absorção de cálcio na mitocôndria e provocando a liberação de fatores pró-apoptóticos, que, em última instância, levam à morte das células tubulares renais.¹⁷

Há evidências de que o DNA mitocondrial, ou outros alvos mitocondriais, são talvez mais importantes do que o dano ao DNA nuclear na mediação da morte celular induzida por cisplatina. A cisplatina é hidrolisada para gerar um metabólito carregado positivamente que preferencialmente se acumula dentro da mitocôndria carregada negativamente. Assim, a sensibilidade das células à cisplatina parece correlacionar-se tanto com a densidade da mitocôndria como com o potencial de membrana mitocondrial. Esta observação pode explicar a sensibilidade particular

do túbulo renal proximal à toxicidade, dado que este segmento apresenta uma das maiores densidades de mitocôndrias no rim. A comparação das células cancerosas ovarianas sensíveis à cisplatina com células resistentes à mesma droga revelou um menor potencial de membrana mitocondrial, bem como menos danos ao DNA mitocondrial nas células resistentes, podendo o DNA mitocondrial ser mais suscetível do que o DNA nuclear a danos induzidos pela cisplatina, devido aos mecanismos de reparos do DNA menos eficientes. Tomados em conjunto, estas observações apontam para o DNA mitocondrial como um importante alvo de toxicidade da cisplatina.^{14,18}

A produção de energia pela mitocôndria também é rompida pela cisplatina e pode contribuir para a nefrotoxicidade. Os ácidos graxos são a principal fonte de energia para o túbulo proximal, o principal local de lesão renal da cisplatina. A cisplatina inibe a oxidação de ácidos graxos no rim de ratos e em células do túbulo proximal em cultura, por meio de uma redução da expressão do *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPAR- α) mediada por genes envolvidos na utilização de ácidos graxos celulares.¹⁹

A cisplatina também afeta os complexos mitocondriais respiratórios e sua função. A exposição de culturas de células do túbulo proximal à cisplatina *in vitro* inibe complexos mitocondriais I a IV da cadeia respiratória e, como resultado, acarreta diminuição dos níveis intracelulares de ATP. O tratamento com cisplatina *in vivo* também resultou em disfunção mitocondrial como evidenciado por uma diminuição no potencial eletroquímico da membrana, uma diminuição substancial na absorção de cálcio mitocondrial e um esgotamento dos sistemas de defesa antioxidantes mitocondriais.^{18,19}

ESTRESSE OXIDATIVO E NITROSATIVO

Há muitas evidências de que o estresse oxidativo esteja envolvido na lesão renal após a administração da cisplatina. Foram sugeridos que a produção de ROS, a depleção dos sistemas antioxidantes e estimulação do acúmulo renal de produtos da peroxidação lipídica são os principais mecanismos relacionados com a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, que causam ativação do metabolismo oxidativo, por estimular a produção de ROS pelas mitocôndrias danificadas, incluindo ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e radical hidroxila (OH) e/ou pode também diminuir os sistemas antioxidantes

de defesas, tais como GSH, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationaperoxidase (GPx). A participação do estresse nitrosativo está envolvida no dano renal induzido pela cisplatina, havendo evidências de que os efeitos celulares de ROS são amplificados pela maciça produção de óxido nítrico (NO), possivelmente por induzir a síntese do óxido nítrico sintetase (iNOS), resultando em contínua formação de peroxidonitritos (ONOO-), que ao reagir com ânions superóxido, contribui para o dano renal induzido pela cisplatina. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio após tratamento com cisplatina resulta em danos significativos à estrutura e funções celulares, incluindo a peroxidação lipídica, nitratação de proteínas, inativação enzimática e quebra do DNA. Como consequência, deste fenômeno ocorre uma disfunção celular e a geração dos sinais intracelulares para a ativação tanto de vias apoptóticas quanto de vias de sobrevivência celular, causando lesão renal e morte celular.²⁰⁻²³

A cisplatina pode induzir a formação de ROS nos microsomas através do sistema citocromo P450 (CYP). Testando modelos *in vitro* e *in vivo*, mostrou-se que o CYP foi uma importante fonte de ferro catalítico para a geração de ROS durante o tratamento com cisplatina. Em ratos CYP2E1-nulos, o acúmulo de ROS induzido pela cisplatina foi atenuado, assim como a lesão renal. Apesar do reconhecimento da função do estresse oxidativo na nefrotoxicidade da cisplatina, os alvos moleculares críticos das ROS em células tubulares renais são ainda desconhecidos. Pela sua ampla natureza reativa, as ROS podem atacar e modificar múltiplas moléculas nas células, tais como lipídeos, proteínas e DNA, resultando em estresse celular. Também as ROS parecem estar envolvidas na ativação de várias vias de sinalização importantes durante a nefrotoxicidade da cisplatina, incluindo vias apoptóticas. Estas observações sugerem que as ROS podem ser sinais precoces e que são pelo menos parcialmente responsáveis pela ativação de várias vias de sinalização culminando em insuficiência renal, lesão e morte celular durante a nefrotoxicidade da cisplatina.^{24,25}

Além da lesão, as células renais podem também montar uma resposta citoprotetora sob estresse oxidativo. Este é mais bem ilustrado pela ação da heme-oxigenase-1 (HO-1). A HO-1 é uma enzima microsomal redox-sensível que catalisa a degradação da heme em biliverdina, ferro, e monóxido de carbono. Os ratos HO-1-deficientes foram

significativamente mais sensíveis à lesão renal induzida por cisplatina, em comparação com seus controles selvagens. Em modelos *in vitro*, a superexpressão da HO-1 significativamente minimiza a apoptose induzida pela cisplatina. A base molecular dos efeitos crioprotetores da HO-1 não é totalmente clara, mas os mecanismos que têm sido postulados são a degradação da porção do heme pró-oxidante, a geração de bilirrubina antioxidante, e a geração de monóxido de carbono crioprotetor. De fato, um estudo mostrou que o monóxido de carbono pode melhorar significativamente a lesão renal induzida pela cisplatina *in vitro* e *in vivo*. Perspectivas de pesquisas envolvendo o papel da HO-1 e os seus produtos podem não apenas fornecer o entendimento mecanicista da lesão renal induzida pela cisplatina, mas também pode conduzir à identificação de melhores agentes renoprotetores.^{26,27}

Em vários modelos experimentais, os efeitos renoprotetores foram demonstrados para os antioxidantes, tais como dimetiltiourea (DMTU), melatonina, selênio, vitamina E, a N-acetilcisteína, e muitos outros. No entanto, se estes antioxidantes são renoprotetores em pacientes humanos, no contexto durante a quimioterapia utilizando a cisplatina estes efeitos são incertos até o momento. É importante ressaltar que os produtos antioxidantes naturais podem diminuir as ROS nos rins, sem afetar a eficácia anticancerígena da cisplatina. Embora os ingredientes ativos não sejam conhecidos em todos estes produtos naturais, mas se os efeitos renoprotetores são comprovadamente verdadeiros em seres humanos, poderiam ter aplicação terapêutica em potencial.^{3,4,18}

RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Existem várias evidências que sugerem fortemente o envolvimento de mecanismos inflamatórios como um dos papéis importantes na patogênese da nefrotoxicidade da cisplatina. A cisplatina ativa a fosforilação e a consequente translocação do fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B) para o núcleo, por meio da degradação da proteína inibidora I κ B α . A ativação do NF- κ B promove a transcrição de genes específicos que codificam mediadores inflamatórios, promovendo respostas imunes, proliferativas, antiapoptóticas e inflamatórias.¹⁸ Este evento leva ao aumento da expressão do fator de necrose tumoral- α (TNF- α) em células tubulares renais, uma citocina importante envolvida na inflamação

sistêmica e na resposta de fase aguda induzida por administração da cisplatina. O TNF- α pode desencadear a morte celular tubular e danos aos tecidos diretamente através do receptor de TNF tipo 1 (TNFR1), bem como indiretamente por meio da montagem de uma resposta inflamatória intensa através do receptor do TNF tipo 2 (TNFR2). Além disso, a sinalização do TNF- α /TNFR2 contribui para a nefrotoxicidade da cisplatina e pode potencializar os efeitos pró-apoptóticos da ativação do TNFR1. Sabe-se que o TNF- α também coordena a ativação de uma grande rede de citocinas pró-inflamatórias, tais como a interleucina-1, 4, 6 (IL-1 β , IL-4, IL-6), fator de crescimento de transformação β -1 (TGF- β 1) e a quimiocina proteína-1 quimiotóxica para monócitos (MCP-1) estimulada após ativação da citocina RANTES (*Regulated on activation, Normal T cell expressed and secreted*). Além disso, o TNF- α induz a expressão de moléculas de adesão que incluem molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão da célula vascular-1 (VCAM-1) e selectina-E, promovendo um influxo de células inflamatórias em tecidos. Já foi demonstrado que o TNF- α é produzido localmente por células próprias do rim e não por células derivadas da medula óssea, do sistema imunológico que infiltram o órgão durante a nefrotoxicidade pela cisplatina.²⁸ Assim, a infiltração de células inflamatórias pode servir de reservatórios de citocinas e quimiocinas inflamatórias e isso pode intensificar os efeitos citotóxicos da cisplatina, contribuindo para a perda da função renal e para o desenvolvimento de fibrose, através da geração de ROS, NO e citocinas pró-inflamatórias.²⁹

Em resumo, o TNF- α parece ser uma chave regulatória à jusante na resposta inflamatória desencadeada por cisplatina. No entanto, os sinais à montante responsáveis pela produção de TNF- α permanecem incertos. Zhang *et al.*³⁰ propuseram o papel dos receptores Toll-like (TLRs), uma família de receptores considerados como uma primeira linha de defesa inata, podendo ser responsáveis por iniciar a produção de citocinas e pela disfunção renal durante a nefrotoxicidade pela cisplatina. Seus estudos demonstraram que o TLR4 é essencial em iniciar a resposta inflamatória intrarrenal que ocorre na nefrotoxicidade pela cisplatina.

ATIVAÇÃO DA FAMÍLIA DE PROTEÍNAS QUINASES ATIVADAS POR MITÓGENOS (MAPKs)

O sistema sinalizador de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) consiste em várias vias de

proteínas com atividade serina/treonina quinases altamente conservativas, que são ativadas por diversos sinais extracelulares, e muitos processos regulatórios celulares incluindo proliferação, diferenciação, migração, apoptose e sobrevivência. As Quinase c-JunN-terminal (JNK) e p38 MAPK são induzidas pelo estresse celular, por respostas inflamatórias e por vias apoptóticas que são iniciadas por uma variedade de estímulos estressantes biológicos, físicos e químicos, enquanto a cascata de sinais extracelulares regulados por quinases (ERK) é induzida, em sua maioria, por fatores de crescimento de sobrevivência e morte celular. Dados sugerem ativação diferencial de três maiores vias de MAPKs (ERK, JNK e p38) em modelos experimentais de nefrotoxicidade pela cisplatina *in vitro* e *in vivo*.^{3,4}

Os eventos à jusante da ativação do MAPK p38 que conduzem à síntese de TNF-alfa durante a inflamação renal induzida por cisplatina foram delineados, mas já foi demonstrado que em neutrófilos estimulados por lipopolissacarídeos e em células musculares lisas de vasos sanguíneos, a ativação de MAPK p38 conduz à degradação do I κ B (inibidor do NF- κ B), consequentemente promovendo a ativação e migração do NF- κ B para o núcleo, produzindo as citocinas pró-inflamatórias incluindo o TNF- α . Por outro lado, alguns destes mediadores inflamatórios, incluindo o TNF- α , que promove uma alça amplificadora, induzindo ele próprio a fosforilação e a degradação da proteína inibitória I κ B α e a transcrição de genes para mediadores inflamatórios.²⁰

Fatores de crescimento de transcrição- β (TGF- β), proteína quimiotática dos monócitos-1 (MCP-1), moléculas de adesão intercelular (ICAM) e HO-1 têm sido implicados na nefrotoxicidade à cisplatina. Significante *up-regulation* do TNF- α , TGF- β , RANTES, proteína inflamatória dos macrófagos 2 (MIP-2), MCP-1, TCA3 (T-cell activation-3), IL-1b e ICAM-1 foi encontrada em rins de animais tratados com cisplatina. O aumento da interleucina 1b (IL-1b) está associado às caspases pró-inflamatórias (enzima conversora de IL-1b ou ICE), das quais a caspase-1 que também ativa outras citocinas, tais como a IL-18 e a IL-6, promovendo infiltração de neutrófilos. A inibição da IL-1b, da IL-18, da IL-6 ou da infiltração neutrofílica nos rins não é suficiente para prevenir a injúria renal induzida pela cisplatina; entretanto, ratos deficientes em caspase-1 são protegidos da apoptose e da necrose tubular aguda. Isto poderia ser decorrente

da participação da caspase-1 na via apoptótica, que além de participar no processo inflamatório, também poderia ativar a caspase-3, induzindo apoptose no tecido renal.^{3,4,18}

ATIVAÇÃO DE VIAS APOPTÓTICAS

Duas vias principais de apoptose têm sido implicadas na nefrotoxicidade da cisplatina, incluindo (i) a via intrínseca que envolve organelas celulares, tais como retículo endoplasmático e mitocôndrias; e (ii) a via extrínseca, também chamada de via do receptor de morte celular, que envolve a ativação de receptores de morte em resposta à ligação de receptores de membrana. Ambas as vias conduzem à ativação de proteases específicas chamadas de caspases executoras (caspases 3 e 7), resultando em sinais morfológicos característicos de apoptose que incluem formação de bolhas de membrana, retração das células e fragmentação do DNA.^{4,31}

A via intrínseca ou mitocondrial emergiu como um fator chave para a morte da célula tubular renal em modelos experimentais induzida por nefrotoxicidade à cisplatina. As proteínas pró-apoptóticas da família Bcl-2 (Bax e Bak) funcionam como “integradores moleculares” para a via mitocondrial, e seu papel na apoptose induzida pela cisplatina tem sido documentada em modelos *in vivo*. Após a exposição aos sinais de morte celular, as proteínas pró-apoptóticas Bax e Bak sofrem modificações estruturais e alteram a integridade da membrana mitocondrial para provocar a liberação de fatores apoptogênicos, tais como citocromo C (ativador de caspases) e do fator de indução da apoptose (AIF), promotor da morte celular independente de caspase. Apesar do citocromo C ser liberado em resposta à cisplatina, a inibição da citocromo C mediada por ativação de caspases forneceu apenas proteção parcial da apoptose induzida pela cisplatina, sugerindo um papel do AIF na morte celular. Na nefrotoxicidade pela cisplatina, em adição aos reguladores à jusante das vias apoptóticas como as proteínas da família Bcl-2, dois outros mecanismos importantes têm sido relatados: transdutores de sinais, tais como proteínas quinases (MAPKs, PI3K e Akt/PKB) e fatores de transcrição (NF- κ B e p53). O papel da proteína p53 tem sido reconhecido como crítico para indução de apoptose na nefrotoxicidade da cisplatina. Os estudos sugerem que a ativação da p53 pode ser um sinal de início da apoptose induzida pela cisplatina nas células tubulares renais,

promovendo a ativação da caspase-2 e à liberação mitocondrial de AIF, duas vias principais de morte celular, demonstrando também que o dano ao DNA é induzido pela translocação do AIF e depende da presença de p53.^{3,31,32}

O retículo endoplasmático (RE) também pode iniciar a apoptose diretamente ou através da interferência com a via mitocondrial. A caspase iniciadora na via do RE é a caspase 12, que está localizada na face citosólica do RE a qual é ativada por estresse. Outra proteína associada ao RE que tem sido implicada na morte da célula é uma fosfolipase A2 independente de Ca²⁺. Em células tubulares renais tratadas com cisplatina, esta proteína pode agir à jusante da p53 e à montante da caspase 3. A via extrínseca, iniciada pela ligação dos receptores de morte celular através de ligantes na membrana plasmática leva ao recrutamento e à ativação de caspases 8 e 10, os quais ativam a caspase 3 e podem recrutar a via mitocondrial. Os principais ligantes da morte celular incluem Fas e TNF- α com os seus receptores correspondentes (TNFR 1 e 2).^{4,31}

A apoptose mediada pelo receptor de morte celular induzida pela cisplatina foi detectada em células epiteliais tubulares proximais humanas, e foi associada com um aumento da expressão de Fas e Fas ligante em tecidos renais. Por outro lado, o TNFR1 contém um “domínio de morte” conservador que, após a ligação com o TNF- α , pode desencadear a formação de uma complexa ativação de caspases, levando à apoptose. Em contraste, o TNFR2 não tem o “domínio de morte” e, portanto, pode não estar diretamente envolvido no início de apoptose.^{29,32}

CONCLUSÃO

A nefrotoxicidade é um efeito adverso grave e limitante em pacientes com câncer que utilizam a cisplatina, sendo o resultado do transporte da cisplatina em células do epitélio renal, lesão nuclear e do DNA mitocondrial, ativação da morte celular por vias múltiplas e início de uma resposta inflamatória intensa. Embora esta toxicidade apresente potenciais alvos terapêuticos, intervenções em modelos animais têm fornecido apenas uma proteção parcial. Além disso, o impacto de intervenções sobre a eficácia quimioterápica da cisplatina não tem sido adequadamente examinado. Novas perspectivas surgem sobre estratégias combinadas que têm como alvo vários mecanismos

moleculares da nefrotoxicidade à cisplatina que poderão ser utilizadas como medidas preventivas em estudos clínicos.

REFERÊNCIAS

1. Naughton CA. Drug-induced nephrotoxicity. *Am Fam Physician* 2008;78:743-50.
2. Sirota JC, Klawitter J, Edelstein CL. Biomarkers of acute kidney injury. *J Toxicol* 2011;2011:328120. PMID: 22131986
3. dos Santos NA, Carvalho Rodrigues MA, Martins NM, dos Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. *Arch Toxicol* 2012;86:1233-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-012-0821-7>
4. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008;73:994-1007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002786>
5. Sánchez-González PD, López-Hernández FJ, López-Novoa JM, Morales AI. An integrative view of the pathophysiological events leading to cisplatin nephrotoxicity. *Crit Rev Toxicol* 2011;41:803-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/10408444.2011.602662>
6. Taguchi T, Nazneen A, Abid MR, Razzaque MS. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Contributions to nephrology* 2005;148:107-21. PMID: 15912030
7. Kuhlmann MK, Burkhardt G, Köhler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:2478-80.
8. Ciarimboli G, Deuster D, Knief A, Sperling M, Holtkamp M, Edemir B, et al. Organic cation transporter 2 mediates cisplatin-induced oto- and nephrotoxicity and is a target for protective interventions. *Am J Pathol* 2010;176:1169-80. PMID: 20110413 DOI: <http://dx.doi.org/10.2353/ajpath.2010.090610>
9. Kröning R, Lichtenstein AK, Nagami GT. Sulfur-containing amino acids decrease cisplatin cytotoxicity and uptake in renal tubule epithelial cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;45:43-9. PMID: 10647500 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/PL00006741>
10. Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, Alonso C, Quevedo C, Pérez JM. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. *Anticancer Agents Med Chem* 2007;7:3-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/187152007779314044>
11. Wainford RD, Weaver RJ, Stewart KN, Brown P, Hawksworth GM. Cisplatin nephrotoxicity is mediated by gamma glutamyl-transpeptidase, not via a C-S lyase governed biotransformation pathway. *Toxicology* 2008;249:184-93. PMID: 18583013 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2008.05.006>
12. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:307-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1691>
13. Jiang M, Dong Z. Regulation and pathological role of p53 in cisplatin nephrotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2008;327:300-7. PMID: 18682572 DOI: <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.108.139162>
14. Cullen KJ, Yang Z, Schumaker L, Guo Z. Mitochondria as a critical target of the chemotherapeutic agent cisplatin in head and neck cancer. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:43-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10863-006-9059-5>
15. Zhang L, Hanigan MH. Role of cysteine S-conjugate beta-lyase in the metabolism of cisplatin. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:988-94. PMID: 12750429 DOI: <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.103.052225>
16. Lajer H, Kristensen M, Hansen HH, Nielsen S, Frøkiær J, Ostergaard LF, et al. Magnesium depletion enhances cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005;56:535-42. PMID: 15947931 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-005-1010-7>

17. Santos NA, Bezerra CS, Martins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. 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* 2008;61:145-55. PMID: 17396264 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-007-0459-y>
18. Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel)* 2010;2:2490-518. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins2112490>
19. Portilla D, Dai G, McClure T, Bates L, Kurten R, Megyesi J, et al. Alterations of PPARalpha and its coactivator PGC-1 in cisplatin-induced acute renal failure. *Kidney Int* 2002;62:1208-18. PMID: 12234291 DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2002.kid553.x>
20. Ramesh G, Reeves WB. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:F166-74. PMID: 15701814
21. Santos NA, Catão CS, Martins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Arch Toxicol* 2007;81:495-504. PMID: 17216432 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-006-0173-2>
22. Chirino YI, Trujillo J, Sánchez-González DJ, Martínez-Martínez CM, Cruz C, Bobadilla NA, et al. Selective iNOS inhibition reduces renal damage induced by cisplatin. *Toxicol Lett* 2008;176:48-57. PMID: 18063323
23. Cetin R, Devrim E, Kiliçoğlu B, Avci A, Candir O, Durak I. Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods. *J Appl Toxicol* 2006;26:42-6. PMID: 16158393 DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jat.1103>
24. Liu H, Baliga R. Cytochrome P450 2E1 null mice provide novel protection against cisplatin-induced nephrotoxicity and apoptosis. *Kidney Int* 2003;63:1687-96. PMID: 12675844 DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00908.x>
25. Jiang M, Wei Q, Pabla N, Dong G, Wang CY, Yang T, et al. Effects of hydroxyl radical scavenging on cisplatin-induced p53 activation, tubular cell apoptosis and nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol* 2007;73:1499-510. PMID: 17291459 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2007.01.010>
26. Shiraishi F, Curtis LM, Truong L, Poss K, Visner GA, Madsen K, et al. Heme oxygenase-1 gene ablation or expression modulates cisplatin-induced renal tubular apoptosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278:F726-36. PMID: 10807584
27. Tayem Y, Johnson TR, Mann BE, Green CJ, Motterlini R. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by a carbon monoxide-releasing molecule. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290:F789-94. PMID: 16291575
28. Zhang B, Ramesh G, Norbury CC, Reeves WB. Cisplatin-induced nephrotoxicity is mediated by tumor necrosis factor-alpha produced by renal parenchymal cells. *Kidney Int* 2007;72:37-44. PMID: 17396112 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002242>
29. Ramesh G, Reeves WB. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285:F610-8. PMID: 12865254
30. Zhang B, Ramesh G, Uematsu S, Akira S, Reeves WB. TLR4 signaling mediates inflammation and tissue injury in nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:923-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2007090982>
31. Sancho-Martínez SM, Prieto-García L, Prieto M, López-Novoa JM, López-Hernández FJ. Subcellular targets of cisplatin cytotoxicity: an integrated view. *Pharmacol Ther* 2012;136:35-55. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.07.003>
32. Mukhopadhyay P, Horváth B, Zsengellér Z, Zielonka J, Tanchian G, Holovac E, et al. Mitochondrial-targeted antioxidants represent a promising approach for prevention of cisplatin-induced nephropathy. *Free Radic Biol Med* 2012;52:497-506. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.001>