

4. CISPLATINA

4.1. Cisplatina

A cisplatina ou cis-diamindicloroplatina(II), é um agente antineoplásico utilizado como adjunto no tratamento de uma grande variedade de tumores^{4.0}. A carboplatina é um dos derivados da cisplatina (Figura 20). Ambos apresentam mecanismo de ação semelhante, diferindo apenas na estrutura e toxicidade. Em função desta característica a carboplatina (Figura 20) frequentemente substitui a cisplatina em protocolos onde espera-se que esta seja muito tóxica^{4.0}. A cisplatina foi aprovada para comercialização em 1978. Após a administração, a cisplatina atravessa a membrana celular. Uma vez dentro da célula, a molécula sofre hidrólise, e os grupos cloreto são substituídos por grupos hidroxila, dando origem à forma ativa que pode ligar-se a ácidos nucleicos ou proteínas. Assim, a cisplatina inibe a replicação do DNA, transcrição do RNA e a síntese de Proteínas. A cisplatina forma ligações cruzadas inter e intrafitas em sequências específicas de bases nitrogenadas do DNA e a extensão destas ligações correlaciona-se bem com seus níveis de citotoxicidade. A cisplatina é uma fármaco imunossupressor e radiosensibilizador^{4.1}. Este mecanismo de ação explica tanto o seu efeito terapêutico como o efeito tóxico em tecidos normais^{4.1}.

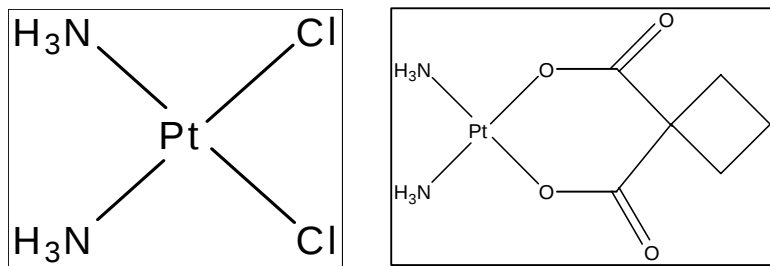


Figura 20 - Estrutura da cisplatina e da caboplatina respectivamente.

4.1.1.

Advento da cisplatina

A platina é um metal nobre, de alto custo e raro na crosta terrestre. Na tabela periódica dos elementos químicos, está no mesmo grupo do níquel e do paládio, sendo o mais pesado desses três metais. A maior parte da platina em circulação no mundo vem de jazidas de minérios da África do Sul (45%), Rússia (45%) e Canadá (8%). É utilizada em vários produtos industriais e em joalheria. Por ser um metal nobre, como o paládio e o ouro, dificilmente se combina com outros elementos químicos. São conhecidos, portanto, poucos sais de platina^{4,2}.

O acontecimento mais importante na Medicina, relativamente aos quimioterápicos, foi a descoberta da cisplatina, um composto conhecido há muito tempo, mas que se revelou ser um poderoso agente contra o câncer. A cisplatina é um composto no qual a platina bivalente está ligada a duas moléculas de amônia (NH_3) e a dois íons cloreto (Cl^-) numa estrutura quadrada planar. A platina ocupa o centro do quadrado, as duas moléculas de NH_3 são vizinhas em dois vértices do quadrado e os dois íons Cl^- ocupam os outros dois vértices. A cisplatina foi preparada pela primeira vez em 1844 por Michele Peyrone^{4,2}.

Em 1964, o Professor Barnett Rosenberg, da Universidade do Estado de Michigan, estava realizando uma experiência de laboratório com *Escherichia coli*, uma bactéria que existe nos intestinos. O meio de cultura onde esta bactéria se multiplicava era uma solução aquosa que continha cloreto de amônio, dihidrogenofosfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, sulfato de sódio e glicose. O meio de cultura com a bactéria foi colocado numa cuba a 37° C. A experiência de Rosenberg consistia na aplicação de um campo elétrico à cultura da bactéria, utilizando eletrodos de platina (como os polos + e - de uma pilha). Sendo a platina um metal nobre, não se esperava que ocorresse qualquer reação com esse metal durante a experiência. O campo elétrico foi aplicado por 2 horas. Durante esse período, a turbidez do meio devido à bactéria foi diminuindo gradativamente até ficar quase límpido. Rosenberg examinou num microscópio uma amostra do meio de cultura após a experiência e teve um resultado surpreendente: a bactéria em forma de bastonete assumiu um aspecto filamentoso.

Os filamentos eram longos e aumentavam rapidamente de tamanho, chegando a um aumento de até 300 vezes, em relação ao seu tamanho original, num período de 1 a 2 horas, depois que o campo havia sido desligado.

Rosenberg percebeu que o processo normal de divisão celular era inibido, sem afetar o crescimento das células. Umas 8 horas depois, recomeça o processo de divisão celular e a população inicial da bactéria era regenerada. Muitos outros experimentos foram realizados, variando-se as condições de trabalho, como a intensidade do campo elétrico, temperatura, tempo e concentração dos nutrientes. Observou-se também que o oxigênio do ar era necessário para o crescimento das células ^{4.3}.

Rosenberg e sua equipe começaram a estabelecer hipóteses sobre os fatores que estariam provocando o fenômeno observado. Uma das hipóteses se formando era de que estaria, no meio de cultura, uma nova substância durante a aplicação do campo elétrico. Pensou-se, então, na possibilidade da substância ser um composto de platina, proveniente do eletrodo, mesmo sendo a platina um metal nobre. Esta possibilidade foi transformada em realidade quando utilizou outros tipos de eletrodos e o fenômeno não ocorreu. Rosenberg e sua equipe concluíram, depois de muito trabalho no laboratório, que o principal composto que impedia a divisão celular da bactéria *E. coli*, mas permitia o crescimento das células, era a cisplatina, de fórmula $[Pt Cl_2 (NH_3)_2]$ ^{4.4}.

Após os testes com bactérias, Rosenberg passou a trabalhar com a possibilidade de utilizar a cisplatina no tratamento de câncer de seres humanos. A cisplatina poderia impedir a proliferação de células malignas sem destruir os tecidos saudáveis. Os testes iniciais foram feitos com camundongos contaminados com tumores malignos do tipo Sarcoma 180. Após a aplicação de quantidades adequadas de cisplatina, verificou-se que a droga era um eficiente agente anti-tumoral. Outros tipos de tumores foram testados com a mesma eficiência da cisplatina. Nesta fase de testes com animais, constatou-se que a cisplatina em doses muito altas produzia efeitos colaterais como lesões nos rins, mal-estar, tontura, náuseas e vômito ^{4.5}.

Em 1971, pacientes terminais foram submetidos ao tratamento com cisplatina e o resultado foi, mais uma vez, surpreendente. A cisplatina se mostrou muito eficiente em 28 diferentes tipos de tumores e cerca de 50% das pessoas foram praticamente curadas. Em 1978, a cisplatina foi oficialmente aprovada como agente anti-câncer pela FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos e liberada para uso médico. Em 1979, a droga foi liberada no Reino Unido e no Canadá e, em seguida, no mundo todo, inclusive no Brasil, com os nomes de neoplatina e platinol. Clinicamente, a cisplatina era mais eficiente quando usada em combinação com outras drogas já conhecidas como a ciclofosfamida, a bleomicina, e a adriamicina, além de outras. Foi a primeira

droga anti-tumoral descoberta que continha um metal. A nova droga se mostrou eficiente em tumores de testículos, ovário, endométrio, pescoço, cabeça, bexiga, pulmões, linfomas, mama, esôfago, estômago e leucemia^{4.8}.

Depois desse trabalho pioneiro de Rosenberg, um número enorme de complexos metálicos, principalmente de platina, foi estudado. Até 1979, 1055 compostos de platina foram testados, dos quais 185 apresentaram atividade. Uma série de pesquisas foi desencadeada mundialmente e mais de 3000 compostos análogos já foram sintetizados, alguns desses novos compostos se mostraram menos tóxicos do que a cisplatina, sendo que somente três outros compostos foram aprovados para comercialização: a carboplatina, a oxaloplatina e a nedaplatina^{4.9}.

Após a descoberta da atividade antitumoral da cisplatina, um grande número de complexos de platina vem sendo sintetizados e avaliados quanto a sua atividade antineoplásica^{4.10}.

Existe um grande interesse no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos à base de metais de transição, especialmente de metais pertencentes ao grupo da platina, que sejam menos tóxicos e ou possuam um espectro de atividade antitumoral mais amplo^{4.11}.

Depois dessa descoberta, uma enorme "caça ao tesouro" foi desencadeada mundialmente, buscando-se complexos de outros metais (principalmente do grupo da platina) que também pudessem ter atividade antitumoral, sendo de preferência menos tóxicos e mais solúveis do que a cisplatina. Já foram testados complexos de rutênio, titânio, irídio e ródio, e alguns já estão em fases avançadas de testes clínicos^{4.11}.

É importante destacar aqui que a descoberta de Rosenberg é considerada nos meios científicos "um acaso". Ou seja, o pesquisador está estudando um problema e observa que um outro fenômeno importante está ocorrendo simultaneamente. A descoberta de Rosenberg foi um "acaso", mas certamente sua formação de cientista e observador dos fatos experimentais lhe permitiu dirigir seu trabalho para uma área aplicada à Medicina, alterando os objetivos iniciais do seu projeto de pesquisa. Poucos cientistas têm essa percepção e, em muitos casos, o pesquisador, não percebe que está diante de um acontecimento importante. Considera que o experimento "não deu certo" e joga o material fora. Assim, depois de Rosenberg, o câncer passou a ser uma doença que pode ser curada^{4.12}.

4.1.2

Derivados da Cisplatina

A aceitação do uso de complexos metálicos, avançou dramaticamente após o uso de complexos de platina no tratamento de câncer de ovário e testículos^{4.10, 4.11}. Assim, rapidamente surgiram vários estudos com inúmeros complexos de platina como inibidores do crescimento de células tumorais. O mais comum para o tratamento de tumores é a cis-platina, a Figura 21 representa um promissor derivado da mesma.

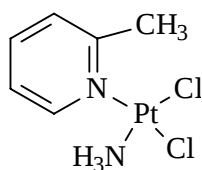


Figura 21 - Estrutura do derivado da cisplatina

Vários compostos de platina são relatados na literatura e diversas são suas aplicações e atividades biológicas. Recentemente Krauth-Siegel e outros relataram a atividade seletiva de um complexo de platina (Figura 22), no metabolismo de tióis no *Trypanossoma cruzi*, protozoário causador do mal de chagas. Este composto atua sobre a enzima glutathione^{4.15, 416, 4.17} redutase do parasita, não atuando sobre a glutathione redutase humana.

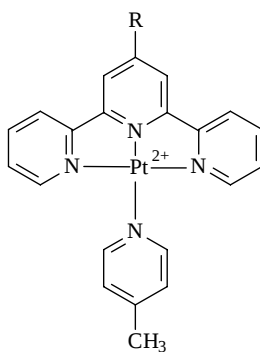


Figura 22 – Derivado da Cisplatina que atua na enzima glutathione do *Trypanossoma cruzi*.

4.1.3.

Resistência ao fármaco

A utilização clínica da cisplatina é limitada por um fator:

a) Desenvolvimento de resistência à droga

O uso sistemático da cisplatina tem mostrado que, como para qualquer outro quimioterápico, o desenvolvimento de resistência à droga é um dos obstáculos para um tratamento mais eficaz. Observa-se em organismos que precisam ser expostos ao quimioterápico por períodos mais longos, o aparecimento de linhagens celulares que se tornam resistentes à droga no decorrer do tratamento^{4.18}.

4.1.4.

Toxicidade

Alguns fatores limitantes para a utilidade clínica da cisplatina estão na resistência à droga e aos severos efeitos colaterais associados ao uso do quimioterápico, tais como a, otorrinotoxicidade, a neurotoxicidade, destacando-se a nefrotoxicidade^{4.19, 4.20}.

Durante o tratamento com este antineoplásico deve ser evitado ou adequado o uso de outros fármacos com potencial nefrotóxico. Em todos os pacientes que fazem uso de cisplatina é feita hidratação antes, durante e após a sua administração e é feito o monitoramento das funções renais antes e depois da terapia²¹.

Em casos onde o paciente tem que fazer uso do quimioterápico por período longo opta-se pelo uso da carboplatina, mesmo apresentando atividade antitumoral menor que a cisplatina, pois apresenta menor toxicidade, destacando-se grande diminuição da nefrotoxicidade. Esta propriedade da carboplatina foi atribuída à maior estabilidade farmacocinética do seu ligante 1,1-ciclobutanodicarboxilato que torna o complexo mais hidrossolúvel facilitando a administração e eliminação pelo organismo, tornando-o conseqüentemente menos tóxico que a cisplatina^{4.22}.

Os efeitos adversos da cisplatina são atribuídos às alterações das funções renais, especialmente na indução de danos nos túbulos proximais. Estes danos causam diminuição na capacidade de filtração do rim com o conseqüente decréscimo do *clearance* da creatinina^{4.23}. Além disso, a

nefrotoxicidade provocada pela cisplatina é caracterizada por alterações morfológicas, bioquímicas e funcionais. A ação da cisplatina sobre as funções renais tem sido extensivamente investigada em sistema de mamíferos. Nos ratos, a nefrotoxicidade induzida por este antineoplásico apresenta características semelhantes àsquelas observadas nos seres humanos^{4.24}.

A administração de uma única dose intraperitoneal de cisplatina (6mg/kg p.c.) induziu necrose dos túbulos proximais e distais nos rins dos ratos tratados, com o pico máximo de lesões sendo observado sete dias após o tratamento. Os danos tubulares estavam localizados principalmente na região corticomedular, onde a concentração de platina no rim era mais alta. Tratamentos crônicos com a cisplatina (1mg/kg p.c.) durante onze semanas resultaram em dilatação tubular, fibrose intersticial e outros danos renais irreversíveis^{4.24}.

Nas últimas décadas, evidências experimentais indicam que os metabólitos reativos de oxigênio, tais como o superóxido (O_2^-), o radical hidroxil ($OH^\cdot$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são importantes mediadores de danos em diversos tecidos e órgãos, inclusive o rim. As espécies reativas de oxigênio têm sido implicadas no dano glomerular, na falha renal aguda e nas doenças tubulares^{4.25}. A irradiação do rim leva à redução progressiva da função, associada com a fibrose tubular. Estas alterações podem ser provocadas pelas ROS, resultantes do estresse oxidativo crônico gerado pela irradiação local^{4.26}.

Estes radicais podem ser gerados no citoplasma, na mitocôndria ou no núcleo das células. A concentração intracelular de radicais livres pode ser aumentada pela maior geração desses radicais ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes. A aceitação de que os radicais livres são responsáveis pela indução de várias patologias renais está apoiada em duas linhas de evidências experimentais: pela detecção de produtos resultantes dos danos oxidativos nos tecidos renais e na urina ou pela demonstração experimental dos efeitos protetores de agentes que inibem a geração de radicais livres nos rins.

O mecanismo pelo qual os compostos de platina induzem danos nas células renais ainda não está completamente esclarecido. Entretanto, a produção de radicais livres de oxigênio nas células tubulares dos rins tem sido considerada um processo patológico importante na nefrotoxicidade provocada pela cisplatina.

Alguns autores têm sugerido que o estresse oxidativo induzido pela cisplatina nos rins está associado com a toxicidade deste antineoplásico e que

a peroxidação dos lipídios é um dos mecanismos envolvidos na sua nefrotoxicidade. Sadzuka *et al.* (1992)^{4.26} observaram que a atividade das enzimas antioxidantes catalase, glutathione peroxidase e da glutathione S-transferase estava significativamente decrescida no rim e no fígado de ratos seis dias após a administração de uma única dose de cisplatina. Os autores propuseram que o aumento na peroxidação dos lipídios observado no rim dos animais tratados poderia ser devido, então, a redução da atividade das enzimas que protegem os tecidos renais do ataque dos radicais livres.

Estudos mostraram que as mitocôndrias das células renais são um alvo susceptível aos danos induzidos pelos radicais livres, apresentando alterações funcionais significativas após o tratamento com a cisplatina^{4.27}. As mitocôndrias podem ser afetadas pelos danos oxidativos por meio do decréscimo da glutathione mitocondrial, que é determinante dos eventos críticos iniciais que levam à peroxidação dos lipídios e subsequente toxicidade renal causada por este antineoplásico.

Os resultados de estudos *in vivo* indicaram que a nefrotoxicidade da cisplatina em ratos estava associada à peroxidação lipídica e que, a administração de sequestradores de radicais livres, como o dimetiltiouréia e superóxido dismutase, diminuiu a nefrotoxicidade da cisplatina, atenuou os danos tubulares e preservou o fluxo sanguíneo renal. Baliga *et al.*^{4.28} realizaram estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliar a função do ferro na nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, por este participar como catalisador da geração de radicais OH[•] via reação de Haber-Weiss. No modelo *in vitro* foram utilizadas células do túbulo proximal renal, enquanto no modelo *in vivo* avaliaram a falência renal aguda em ratos. Nestas análises verificaram que os quelantes deferroxamina e 1,10-fenantrolina reduziram a citotoxicidade e a nefrotoxicidade induzidas por este antineoplásico, danos estes produzidos pela formação dos radicais OH[•].

4.1.5

Aplicações de cisplatina

A cisplatina se encontra em lugar de destaque, entre principais compostos utilizados na quimioterapia anticâncer, atualmente. Sua atividade terapêutica é para uma variedade de tumores como os de bexiga, esôfago, vesícula (avançado) e cabeça, sendo entre os agentes oncológicos o mais

extensamente usado e eficaz contra o câncer metastático ovariano, metastático testicular e de pescoço, sendo também um importante coadjuvante no tratamento do câncer de pulmão^{4,29}.

A utilidade clínica da cisplatina é atualmente bem estabelecida e poucos complexos análogos mostram atividade compatível, destacando-se a carboplatina.

A principal função da cisplatina é se ligar ao DNA. A consequência disto é a ativação de processos que levarão à morte da célula. Isso explica porque este quimioterápico é classificado às vezes como agente alquilante.

Mecanismo biológico de ação

Embora o mecanismo de ação da cisplatina e da carboplatina seja muito discutido, é amplamente aceito no meio científico que estes dois compostos possui o mesmo tipo de atuação na inibição do DNA da célula tumoral. A cisplatina e a carboplatina alquilam o DNA. O mecanismo de ação está relacionado com a inibição seletiva da síntese do DNA^{4,30,4.31, 4.32}. A forma ativa da cisplatina faz ligações covalentes com as porções nucleofílicas principalmente da guanina. O principal sítio de atuação é nitrogênio 7 da guanina (N-7), embora também ocorra ligação covalente com a adenosina e citosina^{4.33,4.34,4.35}.

As propriedades citotóxicas destes compostos, assim como o de numerosos análogos, têm sido atribuídas à sua habilidade de formar ligações cruzadas ("Cross-Link") do tipo interfilamentares e também intrafilamentares^{4.36}. Como a cisplatina é bifuncional, ela pode fazer duas ligações com o DNA, que são similares às reações alquilantes; formam-se ligações cruzadas com as fitas ou filamentos do DNA^{4.28} em particular com a guanina e citosina. Como mostra a Figura 23, podem ocorrer diversas formas de ligações cruzadas.

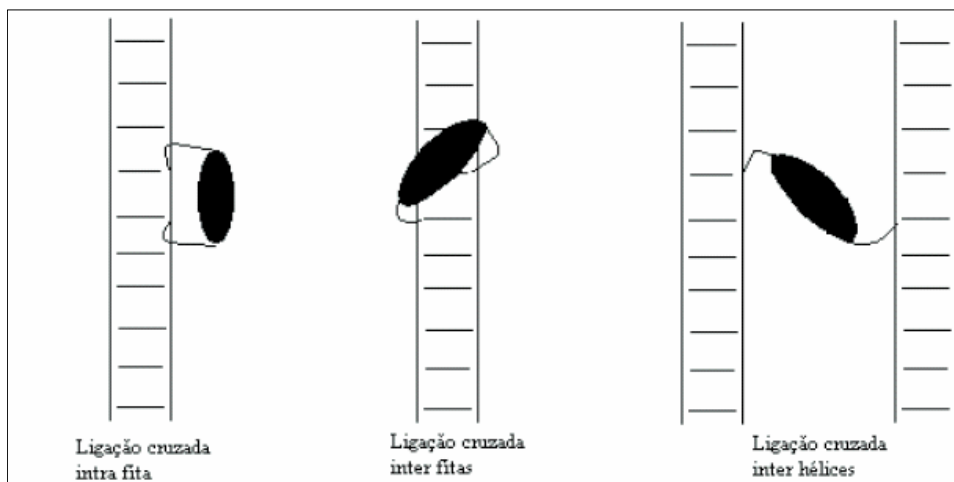


Figura 23- Modelos de ligações cruzadas entre um agente alquilante bifuncional e o DNA.

Todas estas ligações produzem lesões no DNA, sendo que as provocadas pelas ligações cruzadas interfilamentares (InterStrand Cross-link – ISC”) são as mais citotóxicas pois a alquilação de um único filamento de DNA pode até ser reparada facilmente, mas as ligações cruzadas interfilamentares, como as produzidas por agentes alquilantes bifuncionais, exigem mecanismos mais complexos de reparação, podendo até inibir sua replicação^{4,36}. Todas mudam a conformação do DNA e inibem sua síntese, provocando então a morte celular.

O mecanismo preciso pelo qual o dano causado pela cisplatina ao DNA induz a morte celular é desconhecido.

O distúrbio da estrutura terciária do DNA, pela introdução deste composto (gerando quebras, torções ou desenrolamentos) parece ser o mecanismo gerador da citotoxicidade.

Existem evidências de que a cisplatina interfere com a replicação do DNA, sem afetar o RNA ou a síntese protéica.