



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**DAYARA DE OLIVEIRA SILVA**

**ANÁLISE DO PAPEL PROTETOR DO COMPLEXO [6]-GINGEROL- $\beta$ -  
CICLODEXTRINA FRENTE À NEFROTOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA**

**FORTALEZA**

**2021**

DAYARA DE OLIVEIRA SILVA

ANÁLISE DO PAPEL PROTETOR DO COMPLEXO [6]-GINGEROL- $\beta$ -  
CICLODEXTRINA FRENTE À NEFROTOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S579a Silva, Dayara de Oliveira.

Análise do papel protetor do complexo [6]-gingerol-beta-ciclodextrina frente à nefrotoxicidade induzida por cisplatina / Dayara de Oliveira Silva. – 2021.

121 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá.

1. Injúria renal aguda. 2. Antineoplásico. 3. Gengibre. I. Título.

CDD 615.1

---

DAYARA DE OLIVEIRA SILVA

ANÁLISE DO PAPEL PROTETOR DO COMPLEXO [6]-GINGEROL- $\beta$ -  
CICLODEXTRINA FRENTE À NEFROTOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Lucia da Conceição Andrade  
Universidade de São Paulo (USP)

---

Prof. Dr. James Almada da Silva  
Universidade Federal de Sergipe (UFS)

## RESUMO

A cisplatina é um antineoplásico bastante eficaz em diversos cânceres, porém seu uso é limitado devido à sua nefrotoxicidade. A injúria renal aguda (IRA) induzida por essa droga é provocada pela inflamação, apoptose e estresse oxidativo nas células tubulares renais. Portanto, o uso de compostos com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, como o [6]-gingerol, um produto derivado do gengibre (*Zingiber officinale*), torna-se uma possível alternativa para a proteção renal. Essa substância possui como limitação sua baixa solubilidade. Desta forma, foi proposto a sua complexação com a  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), a fim de aumentar sua solubilidade, utilizando doses mais baixas do que as encontradas na literatura, preservando a resposta terapêutica frente à IRA induzida por cisplatina, conseqüentemente melhorando sua biodisponibilidade oral. O presente estudo avaliou o efeito nefroprotetor do [6]-gingerol complexado com a  $\beta$ -ciclodextrina na tentativa de reverter o dano renal causado pela cisplatina em camundongos fêmeas. De início foi realizada uma curva dose-resposta para a escolha da dose (10, 12,5, 15 e 17 mg/kg) de cisplatina capaz de induzir a IRA. A dose de 15 mg/kg de cisplatina foi escolhida. Os animais foram divididos em 5 grupos: controle, cisplatina, N-acetilcisteína (NAC) 120 mg/kg e [6]-gingerol- $\beta$ -CD, nas doses 6,25, 12,5 e 25 mg/kg. Os tratamentos foram administrados por via oral, durante 5 dias, no 3º dia após 1h do tratamento, a cisplatina foi administrada via i.p. Após o 5º dia de experimento os animais foram eutanasiados. Todos os parâmetros investigados foram alterados pela cisplatina, em relação ao grupo controle: creatinina plasmática ( $0,81 \pm 0,124$  mg/dL), ureia plasmática ( $135,7 \pm 20,75$  mg/dL), *clearance* de creatinina ( $1,74 \pm 0,402$  ml/min/kg), Gama-GT urinária ( $2,18 \pm 0,247$  U/mg de creatinina), proteína urinária ( $154,1 \pm 4,78$  mg/dL), MPO ( $8,85 \pm 1,101$  UMPO/mg de tecido), GSH ( $1410,0 \pm 57,42$  GSH/mg de tecido). O [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg foi capaz de reverter a nefrotoxicidade, com base nos parâmetros analisados. Ocorreu o mesmo com a dose de 12,5 mg/kg, com exceção da atividade de MPO. Em relação ao grupo IRA, o complexo foi capaz de diminuir a expressão de KIM-1 5,47 vezes, diminuir a expressão de CxCL-1 3,38 vezes, diminuir a expressão de NF- $\kappa$ B 1,7 vezes, aumentar a expressão de SOD1s 1,72 vezes e diminuir a expressão de Hemox-1 4,16 vezes. Portanto, conclui-se que o presente estudo conseguiu estabelecer um modelo de IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas. Em adição, o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 12,5 e 25 mg/kg foi capaz de reverter a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina em camundongos fêmeas atuando como um anti-inflamatório bloqueando a expressão de mRNA de NF- $\kappa$ B e como agente antioxidante estimulando a expressão de genes relacionados à via do Nrf2.

**Palavras-chave:** Injúria renal aguda, Antineoplásico, Gengibre.

## ABSTRACT

### ANALYSIS OF THE PROTECTIVE ROLE OF [6]-GINGEROL- $\beta$ -CYCLODEXTRIN COMPLEX AGAINST NEPHROTOXICITY PROMOTED BY CISPLATIN

Cisplatin is an antineoplastic agent effective in several cancers; however, due to its nephrotoxicity its use is limited. Acute kidney injury (AKI) induced by this drug is caused by inflammation, apoptosis and oxidative stress in renal tubular cells. Therefore, treatment with compounds like [6]-gingerol, derived from ginger (*Zingiber officinale*), which has anti-inflammatory and antioxidant properties protects the kidney from cisplatin induced-AKI. This substance has low solubility. Complexation with  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) was proposed here to increase the solubility of [6]-gingerol. This complexation could reduce [6]-gingerol dose compared to other studies found in the literature. In addition, it would preserve the therapeutic response against cisplatin-induced AKI and, consequently, improving its oral bioavailability. This study evaluated the protective effect of [6]-gingerol complexed with  $\beta$ -cyclodextrin upon renal damage caused by cisplatin treatment in female mice. The minimal dose necessary to induce AKI via cisplatin treatment was established by a dose-response curve performed with the following concentrations: 10, 12.5, 15 and 17 mg/kg. Our results demonstrated that the 15 mg/kg dose of cisplatin was the best dose to induce AKI for the following experiments. Female Swiss mice (n= 6-8) were divided into 5 groups: control, cisplatin, N-acetylcysteine (NAC) 120 mg/kg and [6]-gingerol- $\beta$ -CD at doses of 6.25, 12.5 and 25 mg/kg. Treatments were administered orally, for 5 days. At the 3rd day, 1h after treatment, cisplatin was administered (i.p.). After 5 days animals were euthanized. All parameters investigated were altered by cisplatin treatment, compared to the control group: plasma creatinine ( $0.81 \pm 0.124$  mg/dL), plasma urea ( $135.7 \pm 20.75$  mg/dL), creatinine clearance ( $1.74 \pm 0.402$  ml/min/kg), urinary Gamma-GT ( $2.18 \pm 0.247$  U/mg creatinine), urinary protein ( $154.1 \pm 4.78$  mg/dL), MPO ( $8.85 \pm 1.101$  UMPO/mg tissue), GSH ( $1410.0 \pm 57.42$  GSH/mg of tissue). Treatment with 25 mg/kg of [6]-gingerol- $\beta$ -CD reversed nephrotoxicity, considering all parameters mentioned above. Similar results were obtained with treatment with 12.5 mg/kg of [6]-gingerol- $\beta$ -CD, except for MPO activity. Compared to the AKI group, the treatment with [6]-gingerol- $\beta$ -CD reduced the expression of KIM-1 by 5.47fold, CxCL-1 by 3.38fold, NF- $\kappa$ B by 1.7fold, and Hemox-1 by 4,16fold. Conversely, treatment with [6]-gingerol- $\beta$ -CD increase SOD1 expression 1.72fold. In conclusion, the present study managed to establish a model of AKI induced by cisplatin in female mice. Additionally, our results indicates that treatment with [6]-gingerol- $\beta$ -CD complex at the doses of 12.5 and 25 mg/kg protected renal function against cisplatin-induced nephrotoxicity in female mice. We suggest that [6]-gingerol- $\beta$ -CD complex acts as an anti-inflammatory agent by blocking NF- $\kappa$ B mRNA expression and as an antioxidant agent by stimulating the expression of genes related to the Nrf2 signaling pathway.

**Keywords:** Acute kidney injury. Antineoplastic. Ginger.

## AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos **camundongos** que foram cedidos para que esse projeto pudesse ser realizado (*in memoriam*). Que todos os animais sejam tratados com respeito e compaixão.

Aos meus pais, **Francisca de Oliveira Silva** e **Valmir Pereira da Silva**, por serem meus maiores exemplos e por sempre me apoiarem em tudo. Sem eles nada disso seria possível.

Aos meus irmãos **Diego** e **Diogo**, por ajudarem na minha formação e sempre estarem ao meu lado.

Às minhas amigas de infância **Amanda Farias** e **Adrielly Oliveira**, por todos esses anos de amizade.

À minha amiga **Raissa Bezerra**, por me acompanhar e me apoiar em todos os momentos.

À minha amiga **Raíssa Dias**, obrigada por sempre estar nos melhores e piores momentos, e por todos os conselhos.

Às minhas amigas **Claudiane Carvalho** e **Sara Ferreira**, sempre me ajudando e me ouvindo, obrigada por toda a força.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá**, obrigada pela oportunidade e por todos os ensinamentos.

Aos companheiros de laboratório **Mikael Almeida**, por estarem sempre disponíveis a ajudar nos experimentos, e pelos conselhos. Ao **Thiago de Freitas**, meu braço direito e esquerdo no laboratório, obrigada, evoluímos muito durante essa jornada. Ao **Cléber Ferreira**, pela grande ajuda neste projeto e pelos ensinamentos. Obrigada por tornarem o laboratório um ambiente mais divertido. Ao **Marco Clementino**, pela grande ajuda nos últimos experimentos.

Ao **Iron**, meu cachorro, obrigada por ter sido um grande companheiro (*in memoriam*).

*“In a dark place we find ourselves,  
and a little more knowledge lights our way.”*

Mestre Yoda (Star Wars)



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura molecular da cisplatina.....	24
<b>Figura 2</b> – Possíveis alvos da cisplatina dentro da célula.....	25
<b>Figura 3</b> – Flor e rizoma de <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....	31
<b>Figura 4</b> – Estrutura química do [6]-gingerol (A), [6]-shogaol (B), [8]-gingerol (C), [10]-gingerol (D).....	32
<b>Figura 5</b> – (a) Estrutura química da $\beta$ -ciclodextrina. (b) Estrutura química em cone da $\beta$ -ciclodextrina.....	35
<b>Figura 6</b> – Desenho experimental da curva dose-resposta.....	43
<b>Figura 7</b> – Desenho experimental dos grupos com tratamento.....	44
<b>Figura 8</b> – Alterações histopatológicas no experimento de curva dose-resposta, nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg de cisplatina e grupo controle. 57	
<b>Figura 9</b> – Mecanismo de ação do [6]-gingerol- $\beta$ -CD.....	89

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b>	– Creatinina plasmática na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.....	52
<b>Gráfico 2</b>	– Níveis de ureia plasmática na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.....	53
<b>Gráfico 3</b>	– Atividade de MPO em tecido renal na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.....	54
<b>Gráfico 4</b>	– Atividade de GSH em tecido renal na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.....	55
<b>Gráfico 5</b>	– Níveis plasmáticos de creatinina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	59
<b>Gráfico 6</b>	– Níveis plasmáticos de ureia após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	60
<b>Gráfico 7</b>	– Avaliação da Taxa de Filtração Glomerular na IRA induzida por cisplatina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	61
<b>Gráfico 8</b>	– Concentrações urinárias de Gama glutamil transferase (Gama-GT) na IRA induzida por cisplatina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	62
<b>Gráfico 9</b>	– Avaliação das concentrações urinárias de proteína na IRA induzida por cisplatina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	63
<b>Gráfico 10</b>	– Avaliação da atividade de MPO na IRA induzida por cisplatina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	64

<b>Gráfico 11</b> – Avaliação dos níveis de GSH na IRA induzida por cisplatina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.....	65
<b>Gráfico 12</b> – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de KIM-1 na IRA induzida por cisplatina.....	67
<b>Gráfico 13</b> – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de TIMP-2 na IRA induzida por cisplatina.....	68
<b>Gráfico 14</b> – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de CxCL-1 na IRA induzida por cisplatina.....	70
<b>Gráfico 15</b> – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de NF- $\kappa$ B na IRA induzida por cisplatina.....	71
<b>Gráfico 16</b> – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica SOD1s na IRA induzida por cisplatina.....	73
<b>Gráfico 17</b> – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica Hemox-1 na IRA induzida por cisplatina.....	74

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Critérios de diagnóstico da IRA de acordo com as classificações RIFLE, AKIN, CK e KDIGO.....	18
<b>Tabela 2</b>	– Causas de IRA na fase renal ou intrínseca.....	21
<b>Tabela 3</b>	– Sequência de iniciadores de PCR para os genes avaliados. (gene de referência: GAPDH).....	49
<b>Tabela 4</b>	– Análise histopatológica dos grupos controle ou com cisplatina (Cis) administrada nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg via i.p.....	56
<b>Tabela 5</b>	– Resumo dos resultados obtidos.....	88

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>IRA</b>	Injúria Renal Aguda
<b>AIF</b>	Fator de Indução de Apoptose
<b>AKIN</b>	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
<b>CD</b>	Ciclodextrina
<b>CGTase</b>	Ciclodextrina gluconotransferase
<b>COX-2</b>	Ciclo-oxigenase-2
<b>CTR1</b>	Transportador de Cobre Humano tipo 1
<b>CxCL-1</b>	Ligante de Quimiocina 1
<b>DAMP</b>	Moléculas de Padrão Associado ao Dano
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>DRC</b>	Doença Renal Crônica
<b>ERK</b>	Quinase Regulada por Sinal Extracelular
<b>EROs</b>	Espécies Reativas de Oxigênio
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>Gama-GT</b>	Gama-Glutamil Transpeptidase
<b>GSH</b>	Glutationa Reduzida
<b>Hemox-1</b>	Heme Oxigenase 1
<b>ICAM-1</b>	Molécula de Adesão Intercelular 1
<b>IL-4</b>	Interleucina 4
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-12</b>	Interleucina 12
<b>IL-18</b>	Interleucina 18
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina 1 $\beta$
<b>iNOS</b>	Óxido Nítrico Sintetase Induzível
<b>JNK</b>	c-Jun N-terminal
<b>KDIGO</b>	<i>Kidney Disease: Improving Global Guidelines</i>
<b>KIM-1</b>	Molécula de Injúria Renal 1
<b>L-FABP</b>	Proteína Hepática de Ligação de Ácidos Graxos
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeo
<b>MASPks</b>	Via da Sinalização da Proteína Quinase Ativada por Quinase
<b>MCP-1</b>	Peptídeo-1 Quimiotático para Monócitos

<b>NAG</b>	N-Acetil- $\beta$ -d-glucosaminidase
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Fator Nuclear $\kappa$ B
<b>NGAL</b>	Lipocaína Associada à Gelatinase Neutrofílica
<b>NOS</b>	Óxido Nítrico Sintase
<b>NTA</b>	Necrose Tubular Aguda
<b>OCT2</b>	Transportador de Cátions Orgânicos tipo 2
<b>PIDD</b>	Proteína Induzida por p53 com Domínio de Morte
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Receptor de Proliferação de peroxissomo $\alpha$
<b>PUMA-<math>\alpha</math></b>	Modulador de Apoptose Induzido por p53
<b>RIFLE</b>	Sistema Risco, Injúria, Falha, Perda e Estágio Final
<b>SOD1</b>	Superóxido Dismutase Citosólica
<b>TFG</b>	Taxa de Filtração Glomerular
<b>TIMP-2</b>	Inibidor Tecidual de Metaloproteinase-2
<b>TLRs</b>	Receptor <i>Toll-Like</i>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral alfa
<b>TNFR1</b>	Receptor de TNF alfa tipo 1
<b>TNFR2</b>	Receptor de TNF alfa tipo 2
<b>VCAM-1</b>	Adesão de Células Vasculares 1
<b><math>\beta</math>-CD</b>	$\beta$ -Ciclodextrina

# Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1 Injúria Renal Aguda .....	17
1.1.1 <i>Injúria Renal Aguda induzida por Fármacos</i> .....	22
1.2 Cisplatina.....	23
1.2.1 <i>Mecanismo da IRA induzida por cisplatina</i> .....	27
1.3 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe .....	31
1.3.1 <i>Gingeróis</i> .....	33
1.4 $\beta$ -ciclodextrina .....	34
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>37</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>39</b>
3.1 Objetivo Geral: .....	39
3.2 Objetivos Específicos: .....	39
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>40</b>
4.1 Animais e Comitê de Ética.....	40
4.2 Compostos utilizados .....	40
4.2.1 <i>Preparação dos compostos</i> .....	40
4.3 Grupos Experimentais .....	41
4.3.1 <i>Curva dose-resposta da Cisplatina</i> .....	41
4.3.2 <i>Grupos com tratamento</i> .....	41
4.4 Desenho Experimental .....	43
4.4.1 <i>Curva dose-resposta</i> .....	43
4.4.2 <i>Grupos com tratamento</i> .....	43
4.5 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos .....	44
4.6 Cálculo do <i>Clearance</i> de Creatinina.....	45
4.7 Avaliação do Dano Tubular: Gama-GT urinária .....	45
4.8 Avaliação da Inflamação.....	46
4.8.1 <i>Atividade da Mieloperoxidase (MPO)</i> .....	46
4.9 Avaliação da Atividade Antioxidante .....	46
4.9.1 <i>Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)</i> .....	46
4.10 Análise Histopatológica .....	47
4.11 Avaliação de Marcadores por PCR Quantitativo em Tempo Real.....	47
4.11.1 <i>Extração de RNA</i> .....	47

4.11.2 Síntese de cDNA .....	48
4.11.3 PCR quantitativo em Tempo Real (qPCR) .....	49
4.12 Análise Estatística .....	50
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>51</b>
5.1 Curva Dose-Resposta .....	51
5.1.1 Parâmetros bioquímicos plasmáticos .....	51
5.1.2 Atividade de mieloperoxidase (MPO) no tecido renal .....	53
5.1.3 Níveis de glutathiona reduzida (GSH) no tecido renal .....	54
5.1.4 Análise histopatológica do tecido renal .....	55
5.2 Tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína .....	58
5.2.1 Avaliação dos parâmetros Bioquímicos plasmáticos .....	58
5.2.2 Avaliação da função renal .....	60
5.2.3 Avaliação do dano tubular .....	61
5.2.3 Avaliação da proteinúria .....	62
5.2.4 Avaliação da Atividade de MPO .....	63
5.2.5 Avaliação do estresse oxidativo: GSH renal .....	65
5.2.6 Expressão gênica de KIM-1, TIMP-2, CxCL-1, NF- $\kappa$ B, SOD1s, Hemox-1 .....	66
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>76</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>90</b>



## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Injúria Renal Aguda

A Injúria Renal Aguda (IRA) é definida como o declínio abrupto, podendo ser de horas a dias, da taxa de filtração glomerular, resultando na retenção dos resíduos de nitrogênio, assim como ureia e creatinina no plasma. O termo Injúria Renal Aguda está sendo comumente utilizado para substituir o antigo termo, insuficiência renal aguda. A IRA abrange lesões iniciais que ocorrem antes mesmo de alguma perda de função excretora ser detectada por testes laboratoriais (DIRKES, 2016; HAN & LEE, 2019). Muitos estudos comprovaram que a duração e a gravidade da IRA determinam os resultados, podendo incluir necessidade de diálise, recuperação da função renal e sobrevida (COCA et al., 2010; CHAWLA et al., 2011).

A *Acute Kidney Injury Network* (AKIN), criada em 2004, é uma rede colaborativa e independente formada por especialistas com o objetivo de promover colaborações no campo da IRA. Já o sistema risco, injúria, falha, perda e estágio final (RIFLE), foi implementado em 2007 na AKIN afim de melhorar o diagnóstico da IRA (KELLUM et al., 2002; MEHTA et al., 2007). Estes critérios de avaliação levam em conta a alta taxa de creatinina e o déficit do volume urinário, não levando em consideração a duração da IRA como uma forma de avaliar sua gravidade. Sabe-se que o diagnóstico precoce da IRA é, atualmente, a melhor maneira de se obter maior sucesso no tratamento (KHOR & WHANG, 2019). Em 2009 foi proposto um novo método de avaliação da IRA, com base na cinética da creatinina, levando em conta os aumentos absolutos de creatinina sérica ao longo de 24h e 48h (WAIKAR & BONVENTRE, 2009).

Uma fundação sem fins lucrativos denominada *Kidney Disease: Improving Global Guidelines* (KDIGO) foi criada em 2003 com o intuito de melhorar os resultados de pacientes com doenças renais em todo o mundo. Em 2012 a KDIGO criou novas diretrizes para ajudar a melhorar o diagnóstico da IRA, com base nas definições propostas por AKIN e RIFLE. De acordo com a KDIGO, a IRA é definida pelo aumento de 0.3 mg/dl da creatinina sérica em 48h, ou pelo seu aumento de 50% em 7 dias, ou um volume urinário menor que 0.5 ml/kg/h por 6 horas. Na **Tabela 1** podemos ver uma comparação das 4 definições de IRA (Kidney Disease: Improving Global Guidelines, 2012).

**Tabela 1** – Critérios de diagnóstico da IRA de acordo com as classificações RIFLE, AKIN, CK e KDIGO.

Classificação	Definição de IRA	Estágio	Critérios para estadiamento
RIFLE	Aumento de $\geq 50\%$ da SCr em 7 dias	Risco	$\geq 1.5$ vezes o valor basal
		Injúria	$\geq 2$ vezes o valor basal
		Falha	$\geq 3$ vezes o valor basal ou aumento de $\geq 0,5$ mg/dl até chegar a 4 mg/dl
AKIN	Aumento de SCr $\geq 3$ mg/dl ou $\geq 50\%$ em 48 horas	1	Aumento de $\geq 0,3$ mg/dl ou 1,5 – 1,9 vezes o valor basal
		2	$\geq 2 - 2,9$ vezes o valor basal
		3	$\geq 3$ vezes o valor basal ou $\geq 0,5$ mg/dl para pelo menos 4 mg/dl ou TSR
CK	Aumento de SCr $\geq 3$ mg/dl em 24 horas ou $\geq 5$ mg/dl em 48 horas	1	Aumento de SCr $\geq 0,3$ mg/dl em 24 horas ou $\geq 0,5$ mg/dl em 48 horas
		2	Aumento de SCr $\geq 0,5$ mg/dl em 24 horas ou $\geq 1$ mg/dl em 48 horas
		3	Aumento de SCr $\geq 1$ mg/dl em 24 horas ou $\geq 1,5$ mg/dl em 48 horas
KDIGO	Aumento de SCr $\geq 3$ mg/dl em 48 horas ou $\geq 50\%$ em 7 dias	1	Aumento de SCr $\geq 0,3$ mg/dl em 48 horas ou 1,5 – 1,9 vezes o valor basal
		2	$\geq 2 - 2,9$ vezes o valor basal
		3	$\geq 3$ vezes o valor basal ou até chegar 4 mg/dl ou TSR

Fonte: Adaptado de Ülger et al. (2018). RIFLE: sistema risco, injúria, falha, perda e estágio final; AKIN: Acute Kidney Injury Network; CK: cinética de creatinina; KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Guidelines; SCr: creatinina sérica.

Análises demonstram associação da IRA com subsequente aumento do risco de mortalidade, progressão da doença renal crônica (DRC) e complicações cardiovasculares. Pode afetar mais de 20% dos pacientes hospitalizados, tendo uma taxa de mortalidade de 23,9% em adultos e 13,8% em crianças. (SUSANTITAPHONG et al., 2013; HORNE, 2017). A incidência de IRA em pacientes graves chega a ser de 30 a 70% e, aproximadamente, 5% dos pacientes em UTI necessitam de terapia de reposição renal (UCHINO et al., 2005). Não existem muitas

informações sobre a ocorrência de IRA na América Latina. Porém, Chavez-Iñiguez e colaboradores (2018), realizaram um estudo de meta-análise a respeito deste tema. Em 10 estudos (2.473 casos) relatam sobre IRA adquirida na comunidade, destes, 6 (2.251 casos) foram realizados no Brasil. 54 estudos (7.985 casos) sobre IRA adquirida no ambiente hospitalar, sendo 34 (6.446 casos) oriundos do Brasil. No Brasil, a taxa de mortalidade de pacientes com IRA é de 43% (CHÁVEZ-IÑIGUEZ et al., 2018).

De acordo com KDIGO, alguns fatores, como sexo, idade e estado de saúde do paciente podem predispor uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de IRA. A desidratação, é o fator com maior facilidade de modificação, podendo ser a desidratação verdadeira (perda de água) ou depleção de volume (diminuição do volume plasmático circulante). A Hipoalbuminemia mostrou-se ser um fator de risco para o desenvolvimento de IRA ou de mortalidade para pacientes que já a desenvolveram. Outro fator de susceptibilidade é a idade avançada, podendo ser associada com a IRA adquirida em ambiente hospitalar ou comunitário (BAGSHAW et al., 2005; DRAWZ et al., 2008; WIEDERMANN et al., 2010; *Kidney Disease: Improving Global Guidelines*, 2012).

Foi observado que o gênero feminino é mais suscetível a desenvolver injúria renal aguda em ambientes hospitalares, incluindo cirurgia cardíaca, exposição à radiocontraste e aminoglicosídeos, ao contrário de doenças renais crônicas. Pessoas com a pele negra podem ser um grupo de risco para IRA associada ao HIV, e a própria injúria renal aguda pode ser considerada como um fator de risco, podendo levar à novos episódios futuramente (SMITH et al., 1986; THAKAR et al., 2003; MEHRAN et al., 2004; OEYEN et al., 2007; WYATT et al., 2008; *Kidney Disease: Improving Global Guidelines*, 2012). Também podemos citar como fatores de risco que aumentam a suscetibilidade à IRA: a disfunção ventricular esquerda, doença renal crônica pré-existente (DRC), doença hepática, proteinúria (OSTERMANN, 2018) e o Diabetes Mellitus, descrito como fator de risco tanto na comunidade, quanto em ambiente hospitalar (BAGSHAW et al., 2005; DRAWZ et al., 2008).

O diagnóstico clínico da IRA pode ser classificado em três categorias: pré-renal; renal e pós-renal. A fase pré-renal pode ser definida como condições clínicas, como uma hipovolemia, hipotensão ou hipoperfusão, que podem levar a uma queda da taxa de filtração glomerular (TGF). Estas condições são causadas por danos externos ao rim, como sepse, hemorragias, grandes cirurgias, uso de radiocontraste (BLANTZ, 1998).

A IRA pós-renal é normalmente causada por uma obstrução no trato urinário. É a causa menos comum de IRA, sendo responsável por menos de 5% dos casos. Esta obstrução pode aumentar a pressão intratubular, causando uma diminuição da TFG. A causa mais comum de IRA pós-renal é a obstrução do colo da bexiga, mas podem existir outras causas menos comuns de obstrução do trato urinário inferior, como coágulos sanguíneos, cálculos e uretrite com espasmos. (BASILE et al., 2012; CLARKSON et al., 2011; MAKRIS & SPANOU, 2016).

A IRA categorizada como renal é uma doença multifatorial, causada frequentemente por lesões feitas diretamente ao rim, podendo ser dividida em quatro subcategorias, doenças que envolvam grandes vasos renais, doenças da microvasculatura renal e glomérulos, necrose tubular aguda (NTA) isquêmica e nefrotóxica e doenças túbulo-intersticial (**Tabela 2**). Desta forma a IRA categorizada como renal pode ser de difícil avaliação devido à grande variedade de lesões que podem ocorrer (CLARKSON et al., 2011; MAKRIS & SPANOU, 2016).

Para a detecção da injúria renal aguda são avaliados alguns biomarcadores, dentre eles os mais tradicionais são a creatinina sérica e a TFG, porém esses biomarcadores não possuem uma boa especificidade. A taxa de creatinina sérica pode demorar de 24 a 48 horas para alcançar seu pico, quando a TFG atinge uma redução de 50%. Após a normalização da TFG, a creatinina também possui uma redução tardia. Portanto, são biomarcadores com pouca especificidade e sensibilidade para IRA (SCOLUM et al., 2012; PERES et al., 2013; SRISAWAT & KELLUM, 2020).

Novos biomarcadores com maior especificidade e que possam detectar a IRA em estágios iniciais vêm sendo estudados, são eles, a  $\alpha$ -glutathione S-transferase,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, N-Acetil- $\beta$ -d-glucosaminidase (NAG), cisteína-C, lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL), molécula de injúria renal 1 (KIM-1), interleucina-18 (IL-18), proteína hepática de ligação de ácidos graxos (L-FABP), netrina-1, vanina-1 e peptídeo-1 quimiotático para monócitos (MCP-1). Biomarcadores de danos podem ajudar no diagnóstico antes, durante e após um evento de injúria renal aguda, podendo ser mais eficazes quando associados à biomarcadores da função glomerular (PERES et al., 2013; TEO & ENDRE, 2017; OH, 2020).

**Tabela 2 – Causas de IRA na fase renal ou intrínseca.**

<b>Injúria Renal Aguda (fase renal ou intrínseca)</b>	<b>Possíveis causas</b>
Tubular	Isquemia renal <i>choque, complicações cirúrgicas, hemorragia, bacteremia, pancreatite, gravidez</i> Drogas nefrotóxicas <i>antibióticos, antineoplásicos, agentes de contraste, solventes orgânicos, anestésicos, metais pesados</i> Toxinas endógenas <i>mioglobina, hemoglobina, ácido úrico</i>
Glomerular	Glomerulonefrite aguda pós-infecciosa Doença de Lupus Glomerulonefrite por IgA Endocardite infecciosa Síndrome de Goodpasture Doença de Wegener
Interstício	Infecções <i>bacteriana ou viral</i> Medicamentos: <i>antibióticos, diuréticos, AINEs, entre outros</i>
Vascular	Vasos grandes: <i>estenose da artéria renal bilateral, trombose da veia renal bilateral</i> Vasos pequenos: <i>vasculite, hipertensão maligna, embolia aterosclerótica ou trombótica, síndrome hemolítica ureêmica, púrpura trombocitopênica trombótica</i>

Fonte: Adaptado de MAKRIS & SPANOU, 2016. AINEs: anti-inflamatórios não esteroidais.

O tratamento da injúria renal aguda não é bem definido, portanto não existe uma farmacoterapia estabelecida. Atualmente, as medidas tomadas são apenas terapias de suporte como, melhora da estabilidade hemodinâmica, retirada de nefrotoxinas e tratamento de possíveis complicações, assim como identificação de grupos de risco e diagnóstico precoce da doença (HULSE & ROSNER, 2019; GAMEIRO et al., 2020).

### **1.1.1 Injúria Renal Aguda induzida por Fármacos**

O rim exerce papéis essenciais ao organismo como, manutenção do equilíbrio de eletrólitos, controle do volume de líquidos, metabolismo e excreção de agentes terapêuticos e de diagnóstico. Os medicamentos são, em sua maioria, eliminados através deste órgão. Muitos podem ter um efeito prejudicial ao rim ou causar nefrotoxicidade e, desta forma, o rim se torna um alvo fácil para toxinas. Áreas como oncologia, cardiologia e doenças infecciosas contam com muitos agentes nefrotóxicos sejam estes utilizados para diagnóstico e/ou terapêutica (GOLDSTEIN, 2016; HOSOHATA, 2016).

A nefrotoxicidade induzida por fármacos pode ser a causa de, aproximadamente, 20% dos casos de IRA. Contudo, os casos em pacientes hospitalizados em unidades de terapia intensiva podem chegar a 60%. Em crianças hospitalizadas pode chegar até 16% dos casos (MOFFETT & GOLDSTEIN, 2011; SALES & FORESTO, 2017; CHAND & PATWARDHAN, 2019).

Durante o processo de excreção de fármacos, a injúria pode ocorrer em diferentes compartimentos renais, como os glomérulos, interstício dos túbulos e nos ductos coletores, assim como afetar a vascularização renal (ZAGER, 1997; SCHETZ et al., 2005). Contudo, as duas principais vias que podem ser afetadas por fármacos são a de filtração glomerular e secreção tubular (PARAZELLA, 2019).

É comum que lesões relacionadas ao uso de fármacos sejam ocasionadas por necrose tubular aguda (NTA). Isto se dá porque o túbulo proximal é um local de reabsorção de fármacos por várias vias, ocorrendo de maneira dose-dependente e progressivamente com o aumento da exposição. As lesões podem ocorrer por disfunção mitocondrial, comprometendo a integridade das membranas lisossômicas ou celulares, facilitando a entrada de cálcio e outros íons na célula e promovendo diretamente a formação de radicais livres (COSTA & NETO 2003; LUCIANO & PAZARELLA, 2018).

Alguns fármacos comumente causam nefrotoxicidade. Como exemplo podemos citar os antibióticos gentamicina e vancomicina; os antivirais como os cidofovir e tenofovir; fármaco imunossupressor como o tacrolimus; e alguns reagentes de contraste ou fármacos anticâncer, como ifosfamida e cisplatina (NOLIN & HIMMELFARB, 2010; LUCIANO & PAZARELLA, 2018).

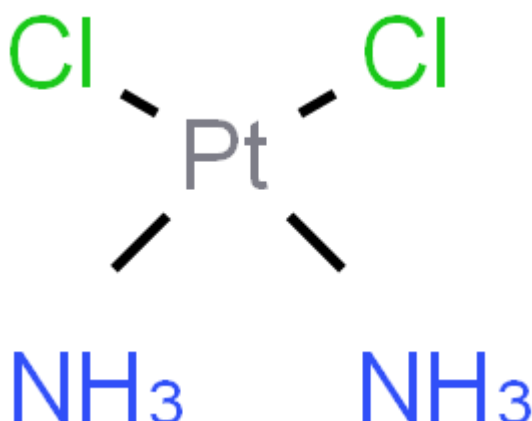
## 1.2 Cisplatina

Os derivados da platina são quimioterápicos que foram introduzidos na terapêutica do câncer nos anos 80. Esses compostos são bastante efetivos contra tumores sólidos de células germinativas, e bastante utilizados no câncer de mama, ovário, cabeça e pescoço, testicular, pulmão, linfomas e mielomas, sendo referência no tratamento dessa doença. São representados principalmente pela cisplatina, carboplatina e oxaloplatina, mas foi a cisplatina a primeira do grupo aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA), em 1978, para o tratamento em cânceres de testículo e ovário (WILTSHAW, 1979; DECATRISA et. al., 2004; WHEATE et. al., 2010; GHEORGHE-CETEAN et al., 2017). São vendidos US\$ 2 bilhões em quimioterápicos à base de platina no mundo inteiro, e quase 50% dos pacientes utilizam cisplatina no tratamento (SIAFACA, 1999; HAMBLEY, 2001; GALANSKI et al., 2005).

Este composto foi descoberto em 1965, por acaso, pelo biofísico Rosenberg, ao testar o efeito de campos elétricos em crescimento bacteriano, utilizando a platina como eletrodo e cloreto de amônio como tampão. Durante o experimento a divisão celular era interrompida, e foi observado que o campo elétrico não causava esse efeito, mas sim um derivado da platina, proveniente do eletrodo (ROSENBERG et al., 1965). A cisplatina (cis-diaminodicloroplatina II) é aprovada para o tratamento de vários tipos de cânceres, incluindo sarcomas e carcinomas, com ótimos resultados em câncer de ovário e câncer metastático testicular. (DASARI & TCHOUNWOU, 2014; GHEORGHE-CETEAN et al., 2017).

A cisplatina é uma molécula inorgânica simples (**Figura 1**), ao contrário da maioria dos antineoplásicos, que possuem moléculas orgânicas. Sua geometria molecular forma um quadrado planar, onde os ligantes ocupam posições cis, isto é, os átomos de cloro estão de um lado e as moléculas de amônia do outro, ligados a um átomo de platina localizado no centro da molécula (SANTOS et al., 2012; RAJAPAKSE & DUNUWEERA, 2017).

**Figura 1** – Estrutura molecular da cisplatina.



Fonte: Retirado de Chemspider, 2021.

A cisplatina é transportada para o interior celular por meio de difusão passiva e através de transportadores como o transportador de cobre humano tipo 1 (CTR1) e o transportador de cátions orgânicos tipo 2 (OCT2) (GATELY & HOWELL, 1993; ISHIDA et al., 2002). Devido à baixa concentração de cloreto no interior da célula, a cisplatina é ativada pelo deslocamento dos seus átomos de cloreto por moléculas de água. Essa molécula hidrolisada é um forte eletrófilo, que pode reagir com grupos sulfidríla de proteínas e átomos doadores de nitrogênio nos ácidos nucleicos (**Figura 2**) (DASARI & TCHOUNWOU, 2014; GHOSH, 2019). Seu principal alvo é a molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA). A cisplatina se liga ao anel imidazol, na posição N7, de bases purina – guanina e em menor frequência, adenina – podendo causar dano ao DNA. Desta forma, em células cancerosas pode bloquear a divisão celular, levando à morte da célula por apoptose (FICHTINGER-SCHEPMAN et al., 1985; JUNG & LIPPARD, 2007; DASARI & TCHOUNWOU, 2014).

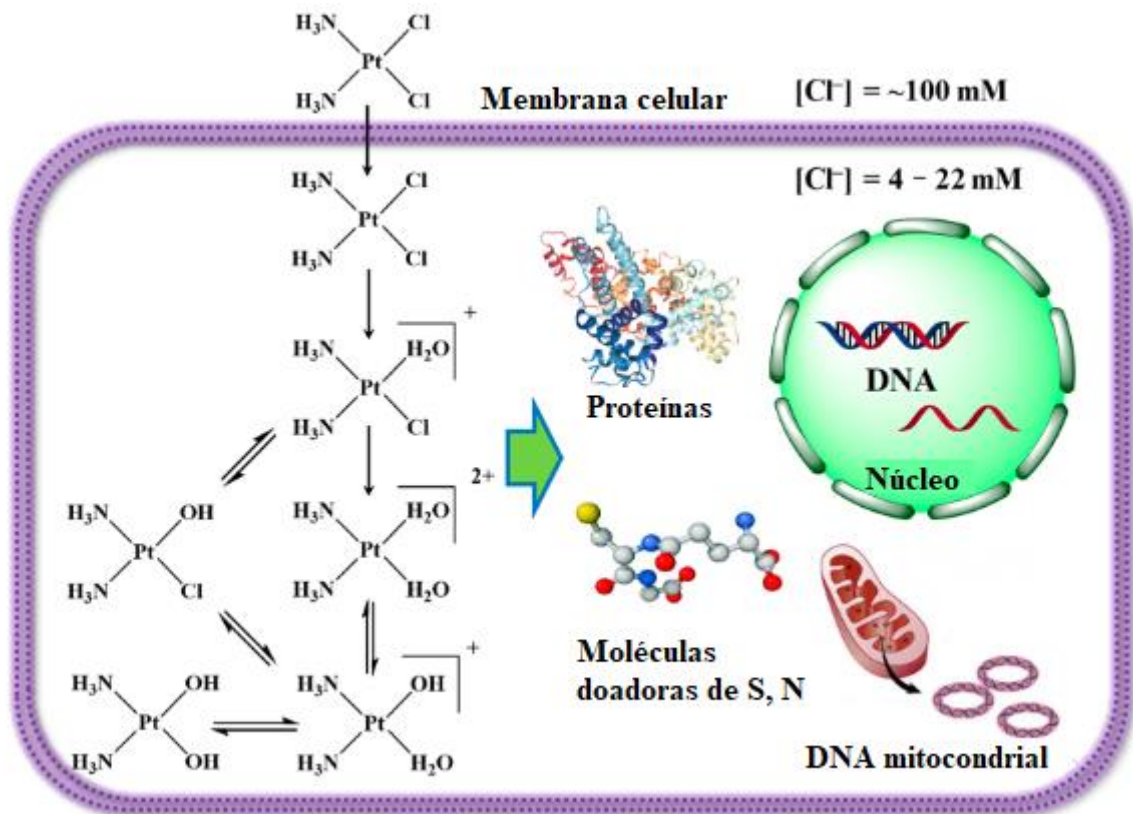
Na corrente sanguínea a cisplatina pode se ligar, ou não, às proteínas. As moléculas não ligantes são responsáveis pela importante atividade anticâncer da cisplatina, enquanto as moléculas ligadas às proteínas podem contribuir para a toxicidade da cisplatina (RAJAPAKSE & DUNUWEERA, 2017).

Embora a cisplatina tenha uma boa eficácia como agente antineoplásico, seu uso é bastante limitado devido à sua grande toxicidade a tecidos normais e possível desenvolvimento de resistência inerente e adquirida (COHEN & LIPPARD, 2001; WANG & LIPPARD, 2005). Os efeitos colaterais mais observados no uso da cisplatina são ototoxicidade, neurotoxicidade, toxicidade gastrointestinal e hematológica, e



nefrotoxicidade, sendo o último o efeito colateral mais comum e limitante no uso deste agente quimioterápico (QI et al., 2019). Na clínica, é observado que 20 – 30% dos pacientes em tratamento com cisplatina desenvolvem nefrotoxicidade em até 10 dias após a administração do fármaco (PERES & CUNHA, 2013; OJHA et al., 2016). Isto se dá devido à sua excreção, pois mais de 90% do total excretado ocorre por via renal, 25% da cisplatina é eliminado em 24 horas e 50% do fármaco demora 5 dias para ser eliminado (TSANG et al., 2009; RUGGIERO et al., 2016).

**Figura 2** – Possíveis alvos da cisplatina dentro da célula.



Fonte: Adaptado de QI et al., 2019.

A longo prazo o paciente que for acometido pela IRA induzida pela cisplatina pode desenvolver doença renal crônica (DRC). Nestes casos o dano tubular pode se recuperar, porém, a inflamação pode persistir levando à fibrose e redução persistente da TFG (SHARP E SISKIND, 2017; GÓMEZ-SIERRA et al., 2018).

A principal estratégia clínica para tentar reverter a nefrotoxicidade causada pela cisplatina é a hidratação intensa com solução salina por via intravenosa, antes e após

a administração do antineoplásico. A hidratação pode reduzir a meia-vida da cisplatina, suas concentrações urinárias e o tempo de trânsito no túbulo proximal. Porém, essa estratégia não parece ser muito eficaz, visto que não consegue prevenir uma diminuição significativa na TFG após apenas um ciclo de quimioterapia contendo cisplatina, desta forma o dano renal persiste (BENOEHR et al., 2005; HAYATI et al., 2015; CRONA, et al., 2017; HIGUCHI & YANAGAWA, 2019).

Apesar da hidratação ser a principal estratégia de combate à nefrotoxicidade causada pela cisplatina, não existem recomendações concretas com relação ao tipo de fluido intravenoso ideal, volume e duração. A suplementação de potássio e/ou magnésio, e o uso de diuréticos como a furosemida e o manitol são discutidos, porém não existe ensaio clínico robusto, prospectivo e randomizado que suporte o uso desses fármacos (DESILETS et al., 2020). Alguns estudos evidenciaram que a N-acetilcisteína poderia atuar prevenindo a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina em humanos e animais (APPENROTH et al., 1993; NISAR et al., 2002; DICKEY et al., 2005; DICKEY et al., 2008; HUANG et al., 2019; GÜNTÜRK et al., 2019).

A amifostina é aprovada pelo FDA como agente nefroprotetor em pacientes fazendo tratamento com cisplatina, porém seu uso é limitado devido ao alto custo, possíveis efeitos colaterais e preocupações de que possa interferir na eficácia antitumoral da cisplatina. Desta forma, seu uso não é recomendado no tratamento de doenças malignas comumente curáveis, como em cânceres de origem em células germinativas, sendo seu uso aprovado apenas para o tratamento de câncer de ovário em estágio avançado e câncer de pulmão de células não pequenas (FOSTER-NORA & SIDEN, 1997; KOYNER et al., 2008; SANTOS et al., 2012; RYBAK et al., 2019).

Em algumas situações pode ser considerada a substituição da cisplatina por outros antineoplásicos semelhantes, como a carboplatina e a oxaloplatina, que são alternativas menos nefrotóxicas, devido à falta de interação com o OCT2, responsável pela captação renal da cisplatina (CIARIMBOLI et al., 2005; SHAH & DIZON, 2009). Porém, esses fármacos não possuem uma eficácia tão boa quanto a cisplatina para alguns tipos de cânceres (WHEATE et al., 2010).

### **1.2.1 Mecanismo da IRA induzida por cisplatina**

O mecanismo de nefrotoxicidade induzida pela cisplatina envolve injúria ao túbulo proximal, estresse oxidativo e inflamação. Podendo ocorrer por meio de processos como, o acúmulo da droga na célula, conversão da cisplatina em metabólitos tóxicos, dano ao DNA, dano às organelas como a mitocôndria e o retículo endoplasmático, interferência no ciclo celular e apoptose (PERES & CUNHA, 2013; MANOHAR & LEUNG, 2018; QI et al., 2019; HIGUCHI & YANAGAWA, 2020).

A concentração de cisplatina no interior do rim ultrapassa sua concentração sanguínea em decorrência da ação dos transportadores CTR1 e OCT2. O primeiro está localizado em vários órgãos, mas no rim está localizado nos túbulos proximal e distal, mais especificamente na membrana basolateral. Já transportadores OCT estão localizados no intestino, fígado, cérebro e rim, e seu tipo 2 está expresso nos segmentos S2 e S3 do túbulo contorcido proximal, também na membrana basolateral, sendo este o principal transportador de cisplatina nos rins (GORBOULEV et al., 1997; CIARIMBOLI et al., 2005; ISHIDA et al., 2002; PABLA et al., 2009; MILLER et al., 2010; PERES & CUNHA, 2013).

Ao ser transportada para a superfície apical das células epiteliais dos rins, a cisplatina sofre uma biotransformação, dando início à sua atividade nefrotóxica. Na corrente sanguínea serão formados conjugados de glutathione (GSH), catalisados pela enzima glutathione-S-transferase. Após a entrada dos conjugados no rim, eles serão clivados pela gama glutamil transpeptidase (Gama GT), expressa na superfície de células do túbulo proximal, em conjugados de cisteinil-glicina. Esses conjugados são convertidos por aminopeptidases, também presentes na superfície de células do túbulo proximal, em adutos de cisplatina-cisteína, que posteriormente são metabolizados em tióis altamente reativos pela cisteína- $\beta$ -liase. Esses tióis, que podem se ligar às proteínas importantes no interior das células dos túbulos proximais, são nefrotoxinas mais potentes (TOWNSEND et al., 2003; ZHANG & HANIGAN, 2003; WAINFORD & WEAVER, 2008; TOWNSEND et al., 2009; QI et al., 2019; VOLAREVIC et al., 2019).

Os produtos hidrolisados de cisplatina podem formar ligações cruzadas com guaninas do DNA nuclear, formando adutos de DNA. Isso prejudicará a replicação e transcrição do DNA, levando à parada do ciclo celular e eventualmente à apoptose (DASARI & TCHOUNWOU, 2014; QI et al., 2019). Porém, foi sugerido que apenas

uma pequena parte da platina celular se liga ao DNA nuclear, e que o DNA mitocondrial seria mais importante para mediar a morte celular induzida pela cisplatina. O produto hidrolisado de cisplatina possui carga positiva tendo, assim, uma preferência pelo DNA mitocondrial, que possui uma carga negativa. Além disso também possui pouca capacidade de reparo, o tornando um alvo comum para a cisplatina. (BURGER et al., 1997; MANDIC et al., 2003; CULLEN et al., 2007; QI et al., 2019). O túbulo proximal possui uma grande concentração de mitocôndrias, esse fator pode explicar sua grande sensibilidade à cisplatina (CULLEN et al., 2007; PERES & CUNHA, 2013).

O acúmulo de cisplatina na mitocôndria pode aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), diminuição na produção de ATP, redução do potencial eletroquímico de membrana e diminuição da absorção de cálcio (KRUIDERING et al., 1997; SANTOS et al., 2007). A produção de energia nos túbulos proximais é interrompida pela cisplatina, que reduz a expressão do receptor de proliferação de peroxissomo  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ), responsável pela oxidação de ácidos graxos, principal fonte de energia para os túbulos proximais (PORTILLA et al., 2002; LI et al., 2004; PERES & CUNHA).

Outra organela que também é afetada pela cisplatina, é o retículo endoplasmático. O dano causado a essa organela é responsável por uma das vias da apoptose induzida pela cisplatina. A ativação da caspase-12, que se localiza na face citosólica do retículo endoplasmático, leva à ativação da caspase-9 por um mecanismo independente da liberação do citocromo C, que leva à ativação da caspase-3 (BOYCE & YUAN, 2006; SANTOS et al., 2012; MANOHAR E LEUNG, 2017). Além da via de apoptose do retículo endoplasmático, há mais duas vias de apoptose, a intrínseca que ocorre através da mitocôndria e a extrínseca, mediada por receptores de morte (QI et al., 2019).

É possível observar que a morte celular exerce um papel importante na injúria renal aguda induzida pela cisplatina, sendo ocasionada por necrose ou apoptose. In vitro, foi observado que baixas doses de cisplatina levam à apoptose e doses mais altas levam à necrose (LIEBERTHAL et al., 1996; MEGYESI et al 1998; LEE et al., 2001).

A proteína supressora de tumor p53, que ativa genes pró-apoptóticos, medeia tanto a via intrínseca, quanto a via extrínseca da apoptose, sendo o seu principal

regulador (JIANG & DONG, 2008; GÓMEZ-SIERRA et al., 2018). Na via intrínseca da apoptose a p53 leva à indução de genes apoptóticos, como a proteína induzida por p53 com domínio de morte (PIDD) e o modulador de apoptose induzido por p53 (PUMA- $\alpha$ ). A indução da PIDD leva à ativação da caspase-2, que por consequência libera o fator de indução da apoptose (AIF) na mitocôndria. A ativação da PUMA- $\alpha$  invalida a função antiapoptótica de Bcl-XL, um membro da família Bcl-2, liberando Bax e Bak, que alteram a membrana mitocondrial, abrindo mais poros de transcrição de permeabilidade mitocondrial e, conseqüentemente, a liberação do citocromo C (ativador de caspases) (JIANG et al., 2006; JIANG et al. 2009; DOI et al., 2010; SHARFUDDIN & MOLITORIS, 2011; MUNSHI et al., 2011). A via extrínseca tem seu início na ligação dos receptores de morte celular através de ligantes na membrana plasmática, que resulta no recrutamento e ativação da caspase-8, que leva à ativação de outras caspases, que desencadeiam a apoptose. Os principais ligantes de morte são Fas e o Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (STRASSER et al., 2000; PABLA & DONG, 2008; SANCHO-MARTÍNEZ et al., 2012).

A nefrotoxicidade induzida pela cisplatina também desempenha um importante papel inflamatório nos rins, podendo induzir muitas citocinas e quimiocinas, incluindo a ativação da fosforilação e translocação do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) para o núcleo, levando à expressão do TNF- $\alpha$  (MILLER et al., 2010; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011b; PERES & CUNHA, 2013). O TNF- $\alpha$  é produzido principalmente por células renais residentes, desta forma, o infiltrado de células inflamatórias pode acumular citocinas e quimiocinas e intensificar a injúria renal causada pela cisplatina (RAMESH & REEVES, 2003; ZHANG et al., 2007). Esta citocina pode desencadear dano tecidual e apoptose das células tubulares através da ativação dos receptores de TNF tipo 1 (TNFR1) e tipo 2 (TNFR2), mas este último intensifica os efeitos do TNFR1, não causando a apoptose das células renais diretamente, visto que o TNFR2 não possui o domínio de morte como o TNFR1 (RAMESH & REEVES, 2003; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011a). O TNF- $\alpha$  pode, ainda, ativar citocinas pró-inflamatórias como IL-4 e IL-6. Também foi observado que sua inibição por antagonistas pode atenuar a regulação positiva de citocinas como TGF- $\beta$ , MIP-2, MCP-1 e IL- $\beta$ , podendo ainda coordenar a indução de moléculas de adesão, como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), e-selectina e a molécula de adesão de células vasculares 1 (VCAM-1). Desta forma, o TNF- $\alpha$  exerce um papel importante na inflamação induzida

pela cisplatina (RAMESH & REEVES, 2002; ZHANG et al., 2007; KONO & ROCK, 2008; QI et al., 2019).

O dano causado pela cisplatina leva à liberação de moléculas de padrão associado ao dano (DAMP), que podem ativar receptores *Toll Like* (TLRs) como o TLR4, um importante receptor no início da inflamação no tecido renal, causada pela cisplatina, levando a produção de várias quimiocinas e citocinas (ZHANG et al., 2008; GLUBA et al., 2010; KIM et al., 2016). Outras vias que também desempenham um papel importante na nefrotoxicidade causada pela cisplatina é a via de sinalização da proteína quinase ativada por mitógenos (MAPKs). As MAPKs são várias proteínas quinases de treonina/serina altamente conservadas que levam a ativação da quinase c-JunN-terminal (JNK), quinase regulada por sinal extracelular (ERK) e p38 (DHILLON et al., 2007; OWENS & KEYSE, 2007).

Sabe-se que o estresse oxidativo exerce um papel essencial na injúria renal aguda induzida pela cisplatina. Após ser hidrolisada, a cisplatina interage com a glutatona, diminuindo sua concentração e/ou inativando-a, levando assim ao acúmulo de EROs. Outro mecanismo para a produção de EROs é a diminuição da atividade dos complexos de respiração mitocondrial (KRUIDERING et al., 1997; ARANY & SAFIRSTEIN, 2003; SIDDIK, 2003; SANTOS et al., 2007). O dano mitocondrial causado pela cisplatina pode aumentar a produção de ânions superóxidos ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radicais hidroxila ( $OH^\cdot$ ). Este dano oxidativo pode diminuir os sistemas de defesa antioxidantes, não enzimáticos (GSH e NADPH) ou enzimáticos (superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase, glutatona transferase e glutatona redutase) (HANNEMANN et al., 1991; SADZUKA et al., 1992; KRUIDERING et al., 1994; KRUIDERING et al., 1997; ANTUNES et al., 2000; TURRENS, 2003; KADIKOYLU et al., 2004; YAO et al., 2007; SANTOS et al., 2007). Em resposta, há um aumento significativo da atividade de óxido nítrico sintase (NOS), que pode catalisar a formação de peroxinitritos ( $ONOO^\cdot$ ) que, por sua vez, podem reagir com ânions superóxidos, causando dano renal (CHIRINO & PEDRAZA-CHAVERRI, 2009).

Espécies reativas de oxigênio podem afetar e modificar várias moléculas como o DNA, proteínas e lipídios, estando envolvidas na ativação de vias importantes para a nefrotoxicidade da cisplatina, como as vias apoptóticas (QI et al., 2019). Desta forma, o uso de agentes antioxidantes se torna uma importante alternativa terapêutica para o combate à nefrotoxicidade causada pela cisplatina. Antioxidantes naturais podem

evitar a produção de oxidantes na mitocôndria, sem alterar o efeito da cisplatina (GÓMEZ-SIERRA et al., 2018; NEHA et al., 2019).

### 1.3 *Zingiber officinale* Roscoe

O gengibre, de nome científico *Zingiber officinale* Roscoe, faz parte da família Zingiberaceae. É uma planta originada na região indo-malaia, porém hoje está amplamente distribuída nos trópicos da Ásia, África, América e Austrália (KIZHAKKAYIL & SASIKUMAR, 2011). Possui um caule especializado e segmentado, e um rizoma tuberoso que cresce horizontalmente na superfície do solo. Suas folhas possuem cerca de 15 – 30 cm de comprimento, que morrem todo ano dando lugar a várias flores (**Figura 3**) (WHITE, 2007; KHAN et al., 2019)

Seu rizoma é comumente utilizado na culinária e na medicina, tanto para medicamentos populares como tradicionais, no tratamento de uma vasta variedade de doenças, mas também foi relatado seu uso em suplementos dietéticos (YEH et al., 2014; SEMWAL et al., 2015; MAHBOUBI, 2019). O gengibre é muito utilizado para indigestão, falta de apetite, flatulências, náuseas, vômito, reações alérgicas, sinusite, febre, etc. (KUMAR et al., 2011; DISSANAYAKE et al., 2020).

**Figura 3** – Flor e rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe.



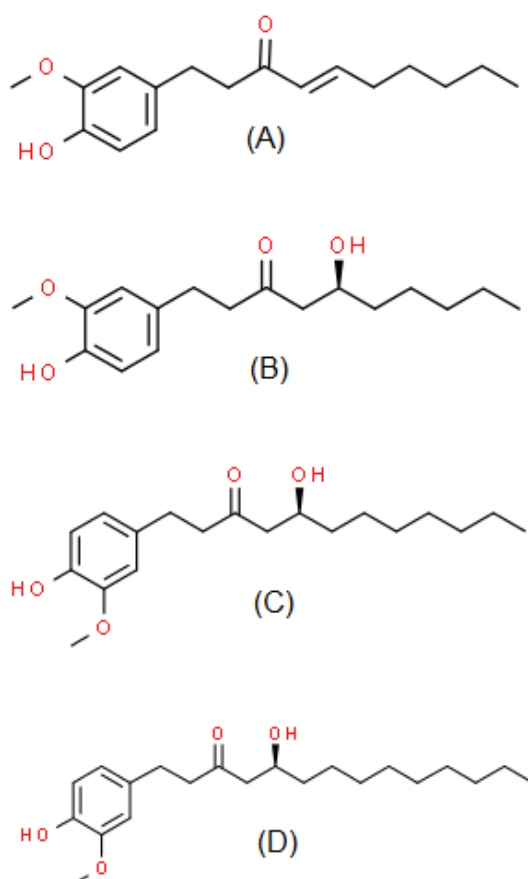
Fonte: Adaptado de REHMAN et al., 2011.

A composição físico-química do rizoma é composta de óleos gordurosos (3 – 6%), proteínas (9%), carboidratos (60 – 70%), fibra crua (3 – 8%), cinzas (8%), água (9 – 12%) e óleos voláteis (2 – 3%) (MAHBOUBI, 2019). O gengibre possui óleos

voláteis e não voláteis. Os primeiros são hidrocarbonetos sesquiterpênicos como o zingiberene (35%), curcumene (18%) e farnesene (10%), já os óleos voláteis são compostos fenólicos como o gingerol, paradols e shogaol (GOVINDARAJAN, 1982; GRZANNA et al., 2005; GUPTA & SHARMA, 2014). Os gingeróis e shogaols são os responsáveis pelo sabor pungente, característico do gengibre (REHMAN et al., 2011).

Os gingeróis e shogaols são os principais componentes bioativos encontrados no gengibre. Os gingeróis são homólogos químicos, diferenciando-se apenas pelo comprimento de suas cadeias. São eles os [6]-, [8]- e [10]-gingerol, com o [6]-gingerol ocorrendo em maior concentração. Já os shogaols são a forma desidratada dos gingeróis, também possuindo formas homólogas (**Figura 4**) (JIANG et al., 2005; ZICK et al., 2008; GUPTA & SHAMAR, 2014; ROUFOGALIS, 2014).

**Figura 4** – Estrutura química do [6]-shogaol (A), [6]-gingerol (B), [8]-gingerol (C), [10]-gingerol (D).



Fonte: Retirado de Chemspider, 2021.



### 1.3.1 *Gingeróis*

Os benefícios do gengibre à saúde e seus constituintes bioativos foram muito estudados na última década. O [6]-gingerol tem recebido uma considerável atenção como agente terapêutico, devido à sua eficácia na regulação de múltiplos alvos e à sua segurança (SRINIVASAN, 2017). Foi observado que ele possui uma variedade de atividades biológicas como, anti-inflamatória, antioxidante, antiagregação plaquetária e antifúngica (WEI et al., 2005; TJENDRAPUTRA et al., 2001; FICKER et al., 2003). Contudo, possui baixa solubilidade em água, podendo limitar seu uso terapêutico (YAGIHASHI et al., 2008).

Foi demonstrado que o [6]-gingerol pode inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como a óxido nítrico sintase, ciclo-oxigenase 2 (COX-2), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, induzidas por lipopolissacarídeo (LPS), assim como a óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) e NF- $\kappa$ B (TRIPATHI et al., 2007; LEE et al., 2009). Além disso, foi observado que esse composto também diminuiu as alterações pró-inflamatórias induzidas por citocinas dependentes da proteína p38 e supra-regulou a MPK5, uma proteína quinase fosfatase-5 ativada por mitógeno, que possui um papel na mediação das atividades anti-inflamatórias (NONN et al., 2007). Em um modelo de fibrose hepática em ratos, o [6]-gingerol também conseguiu diminuir a produção de TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, COX-2, iNOS, além da expressão de TLR4, ICAM e VCAM (ALGANDABY et al., 2016).

Em células de câncer hepático (HepG2), o [6]-gingerol foi capaz de reduzir as quebras nas fitas de DNA causadas por patulina, além de reduzir a formação de EROs e atenuar a depleção de GSH (YANG et al., 2011). O [6]-gingerol obteve o mesmo efeito em células derivadas do endotélio de veias do cordão umbilical humano, com dano induzido por peróxido de hidrogênio (WANG et al., 2014).

Esse composto foi capaz de diminuir o estresse oxidativo e a nefrotoxicidade induzidos pela cisplatina em ratos, aumentando as concentrações de GSH e melhorando os parâmetros de ureia e creatinina (KUHAD et al., 2006). Em um modelo de injúria renal aguda induzida por gentamicina, uma fração contendo os gingeróis foi capaz de atenuar a produção de EROs e RNA mensageiro (mRNA) de citocinas inflamatórias (RODRIGUES et al., 2014). O [6]-gingerol e o [10]-gingerol foram capazes de atenuar os danos causados por EROs e espécies reativas de nitrogênio

em tecido renal, em um modelo de injúria renal aguda induzida por sepse em ratos (RODRIGUES et al., 2018).

Foi demonstrado, em um estudo comparativo que o [8]- e o [10]-gingerol possuem ação antioxidante assim como o [6]-gingerol, diminuindo a produção de EROs (DUGASANI et al., 2010). Em um modelo de colite ulcerativa induzida por sulfato de sódio dextrano em ratos, foi possível observar que essas 3 frações de gingeróis foram capazes de reduzir a elevação de citocinas como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , melhorando os sintomas da colite ulcerativa (ZHANG et al., 2017). O extrato de gengibre foi capaz de melhorar os déficits de memória, elevar a atividade de enzimas antioxidantes e diminuir os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  no cérebro de ratos com doença de Alzheimer induzida por  $\beta$ -amiloide (ZENG et al., 2013). Um outro estudo indicou que o [10]-gingerol pode ter grande potencial para a atividade anti-neuroinflamatória do gengibre fresco (HO et al., 2013).

Em um modelo de IRA induzida por cisplatina em camundongos, foi observado que o [8]-gingerol teve uma atividade nefroprotetora, melhorando a TFG, a concentração de proteína na urina, o estresse oxidativo e a inflamação (SANTOS, 2019).

#### 1.4 $\beta$ -ciclodextrina

Para que um fármaco possua uma absorção completa e uma resposta terapêutica é necessário que possua uma boa solubilidade aquosa. Quando não há essa solubilidade, existem alternativas para alcançá-la, por exemplo, a utilização de complexos de inclusão, como as ciclodextrinas (MARQUES, 2010; ALLEN et al., 2013; SATO et al., 2017).

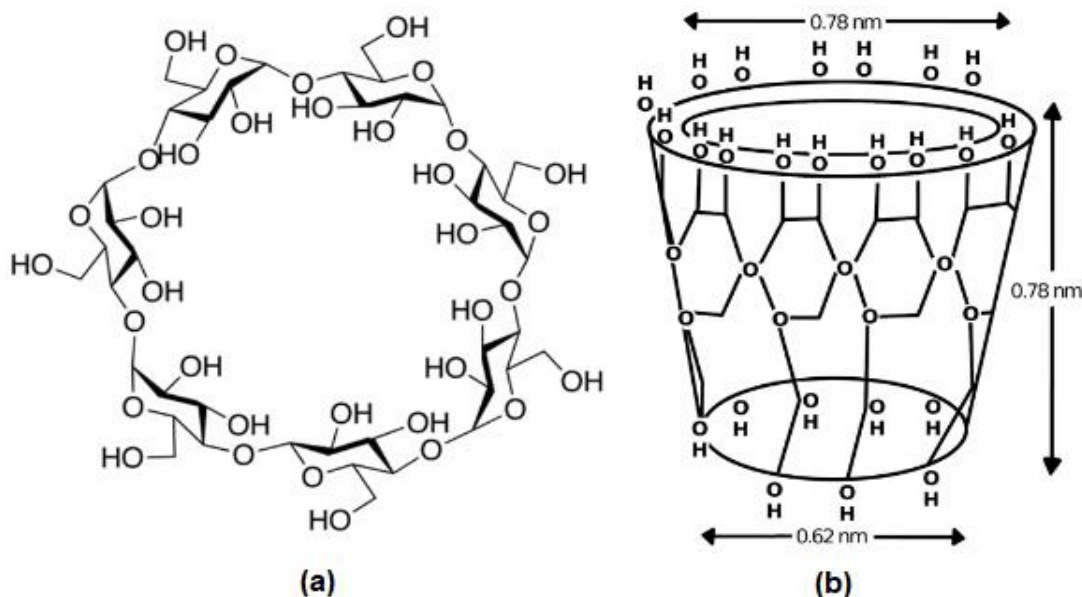
As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados por seis ( $\alpha$ -ciclodextrina), sete ( $\beta$ -ciclodextrina), oito ( $\gamma$ -ciclodextrina) ou mais unidades de glicopiranosose ligadas por ligações  $\alpha$ - (1,4). Elas são o resultado da transglicosilação intramolecular da degradação do amido pela enzima ciclodextrina glucanotransferase (CGTase). Foram mencionadas pela primeira vez por um cientista francês, em 1891, que as descreveu como substância cristalina isolada de *Bacillus macerans*, por meio da digestão de amido. Possuem a superfície externa hidrofílica e a superfície interna hidrofóbica. Por conta da falta de rotação livre em torno das ligações que conectam

as unidades de glicopiranosose, as CDs não possuem a forma de um cilindro perfeito, mas uma forma toroidal ou de cone (**Figura 5**) (VILLIERS, 1891; EASTBURN & TAO, 1994; SZETJLI, 1998; SINGH et al., 2010).

São de grande interesse farmacêutico, devido à sua capacidade de envolver completamente ou parcialmente uma grande variedade de moléculas de drogas, tanto ramificadas, quanto não ramificadas. Sua estrutura faz com que seja um composto orgânico muito importante, capaz de formar mais ligações não covalentes em um sistema *host-guest*. Nesse sistema, a CD “hospeda” uma molécula, em seu interior (BOVING et al., 1998; DAVIS & BREWSTER, 2004; JÓZSEF, 2004; MARTIN DEL VALLE, 2004; AGARWAL & GUPTA, 2012).

A CD possui grande versatilidade, pois permite a construção específica da droga no nanossistema de entrega capaz de otimizar as propriedades físico-químicas desejadas e os parâmetros farmacocinéticos. Moléculas hospedadas pela CD irão sofrer algumas modificações como, aumento da estabilidade contra agentes ambientais, mascaramento de sabores e odores que possam ser adversos e aumento da solubilidade em fluidos corporais. Podem ainda alterar a velocidade de entrega de compostos hospedados, melhorar a quantidade de droga biodisponível e reduzir a dose necessária para produzir um efeito biológico (ZHANG & MA, 2013; OLIVEIRA et al., 2015)

**Figura 5** – (a) Estrutura da  $\beta$ -ciclodextrina. (b) Estrutura em cone da  $\beta$ -ciclodextrina.



A  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) é a forma mais utilizada para o encapsulamento de fármacos e a mais barata, apresenta uma cavidade ideal para hospedar drogas de peso molecular 200 e 800 g/mol, e está classificada como geralmente reconhecida como segura (GRAS) pelo FDA desde 1998, levando-a à microencapsulação tanto em solução aquosa quanto em estado sólido (SZENTE & SZEDJI, 2004; KURKOV & LOFTSSON, 2013; TAO et al., 2014). A  $\beta$ -CD é utilizada na formulação de nanogeis, nanopartículas, em *drug delivery* de drogas orais de alta qualidade, e agente de mascaramento de sabor (CHEN et al., 2011; GIL et al., 2012; MARKUS et al., 2012; ZHANG et al., 2015).

Algumas patentes já foram depositadas utilizando a  $\beta$ -CD como um complexo de inclusão para hospedar drogas como, piroxicam (CHIESI FARMACEUTIC, 1985) e ibuproxam (ZMITEK et al., 1995), ambos são analgésicos e anti-inflamatórios, óleo essencial de *Ocimum basilicum* (QUINTANA-JÚNIOR et al., 2013) e *Lipida grata* (QUINTANA-JÚNIOR et al., 2013), para o tratamento da dor e (-)-linalol (QUINTANA-JÚNIOR et al., 2013), para o tratamento de doenças crônicas, como a fibromialgia.

Dessa forma, este trabalho visa analisar se a complexação do [6]-gingerol com a  $\beta$ -CD, preserva a resposta terapêutica desse composto, em doses menores do que o que já foi apresentado na literatura, frente ao modelo de injúria renal aguda induzida por cisplatina em camundongos fêmeas.

## 2 JUSTIFICATIVA

O dano renal causado pelo tratamento com quimioterápicos é algo frequente na prática clínica. A cisplatina é um antineoplásico altamente eficaz e amplamente utilizado para o tratamento de tumores sólidos nos pulmões, cabeça e pescoço e trato geniturinário, em crianças e adultos. Porém, dos derivados da platina é a droga que causa mais nefrotoxicidade, fator que pode limitar o seu uso (SANTOS et al., 2012; MARULLO et al., 2013; KARAKOC et al., 2015; AMINIAN et al., 2016; LIU et al., 2016). Apesar de já existir algumas pesquisas sobre a prevenção para a nefrotoxicidade causada pela cisplatina (FOSTER-NORA & SIDEN, 1997; HAYATI et al., 2015; CRONA, et al., 2017; GÜNTÜRK et al., 2019), existe uma falta de dados sobre a utilização de novas estratégias, e não existe nenhum estudo sistemático sobre a eficácia clínica de nefroprotetores potenciais com base em uma análise quantitativa (CASANOVA et al., 2020).

Alguns estudos relatam que o sexo feminino pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de injúria renal aguda induzida por cisplatina. Em pesquisas com cisplatina em modelo animal, foi possível observar a nefroproteção das drogas antioxidantes em ratos machos, mas não em fêmeas, e o tratamento com estradiol exacerbou a cisplatina, não protegendo o tecido renal (DE JONGH et al., 2003; ESHRAGHI-JAZI et al., 2011; HAGHIGHI et al., 2012; ESHRAGHI-JAZI et al., 2013; EL-ARABEY et al., 2015; LATCHA et al., 2016).

O [6]-gingerol, administrado por via intraperitoneal (i.p.), já apresentou ter um papel nefroprotetor em um modelo de IRA induzida por cisplatina em ratos. Tal efeito mostrou-se ser dose-dependente, com os melhores resultados sendo visualizados na dose de 50 mg/kg (KUHAD et al., 2006). Em outro estudo realizado por nosso grupo de pesquisa, foi observado que o [8]-gingerol, também na dose de 50 mg/kg e administrado por via intraperitoneal teve um efeito protetor na IRA induzida por cisplatina, em camundongos machos (SANTOS, 2019). Nossa hipótese é de que o [6]-gingerol complexado ao  $\beta$ -CD teria sua solubilidade em meio aquoso aumentada assim como sua biodisponibilidade, fazendo com que pudéssemos reduzir a dose administrada. Esta mesma complexação poderia proporcionar um mascaramento ao sabor pungente desse composto, proporcionando sua administração por via oral uma alternativa menos invasiva e dolorosa que a via i.p. Desta forma, acreditamos que o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD possa ter uma melhor atividade nefroprotetora frente ao

modelo de IRA em camundongos fêmeas em doses menores que as já testadas anteriormente, mesmo que o emprego do agente protetor seja administrado por via oral.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral:

Avaliar se o [6]-gingerol complexado com  $\beta$ -ciclodextrina teria potencial para reverter totalmente o dano renal causado pela cisplatina em camundongos fêmeas.

#### 3.2 Objetivos Específicos:

- Averiguar a melhor dose de cisplatina a ser usada para induzir a injúria renal aguda em um estudo com camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss fêmeas.
- Investigar as alterações histopatológicas do tecido renal em camundongos submetidos à nefrotoxicidade induzida pela cisplatina.
- Verificar os efeitos do tratamento com o [6]-gingerol complexado à  $\beta$ -ciclodextrina sobre os parâmetros da função renal em camundongos fêmeas submetidas ao dano renal por cisplatina.
- Comparar os efeitos de proteção do tecido renal do [6]-gingerol complexado com  $\beta$ -ciclodextrina com os da N-acetilcisteína na IRA induzida por cisplatina.
- Avaliar o perfil oxidativo e inflamatório em camundongos fêmeas tratados com [6]-gingerol complexado à  $\beta$ -ciclodextrina submetidos ao dano renal por cisplatina.
- Analisar o perfil da expressão gênica associado à IRA, resposta inflamatória e de estresse oxidativo em camundongos fêmeas tratados com [6]-gingerol complexado à  $\beta$ -ciclodextrina submetidos ao dano renal por cisplatina.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Animais e Comitê de Ética**

Foram utilizados camundongos swiss fêmeas, adultas, em um peso de 30 – 35 gramas. Os animais são provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), foram mantidos em caixas de polipropileno à uma temperatura de  $20 \pm 2$  °C, num ciclo de luminosidade 12h claro/12h escuro.

Os procedimentos foram realizados conforme as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação com Animal (CONCEA) e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará, sob o número de registro 5734070619.

### **4.2 Compostos utilizados**

O complexado [6]-gingerol- $\beta$ -CD foi cedido pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. James Almada da Silva, da Universidade Federal de Sergipe (UFS). O protocolo de isolamento do [6]-gingerol foi seguido conforme o proposto na literatura (FRAGOSO-SERRANO et al., 2005, com modificações; SILVA et al., 2011 com modificações), assim como a obtenção do complexado com a  $\beta$ -CD (WANG et al., 2006; LYRA, 2009; LIMA et al., 2011; KUMAR et al., 2017). Foi obtido na forma liofilizada e armazenado a uma temperatura de 2 a 8 °C.

A cisplatina utilizada no presente estudo foi obtida no Hospital Universitário Walter Cantídio, outros compostos e drogas utilizados são provenientes das empresas Sigma-Aldrich® USA, Vetec® Brasil e Labtest® Brasil.

#### **4.2.1 Preparação dos compostos**

O complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD foi dissolvido em Tween 80 a 2% em solução salina 0,9% e administrado, por via oral, nas doses de 6,25, 12,5 e 25 mg/kg. Da mesma forma, a N-acetilcisteína foi diluída em Tween-80 a 2% em solução salina 0,9%, e administrada por via oral.



## 4.3 Grupos Experimentais

### 4.3.1 Curva dose-resposta da Cisplatina

Foi realizada uma curva dose-resposta para a escolha da melhor dose que induzisse uma injúria renal aguda, para ser utilizada nos experimentos seguintes. Foram avaliadas as doses de 10, 12.5, 15 e 17 mg/kg.

- Grupo controle  
Foi administrada salina 0,9% por via i.p.. Os animais (n=8) foram mantidos em caixas de polipropileno durante todo o experimento.
- Grupo Cisplatina  
A cisplatina foi administrada, por via i.p., nas doses de 10, 12.5, 15 e 17 mg/kg para a indução da IRA. Os animais (n=8 para cada grupo) foram mantidos em caixas de polipropileno durante todo o experimento.

### 4.3.2 Grupos com tratamento

Após a escolha da melhor dose de cisplatina para induzir a injúria renal (15 mg/kg), foram realizados os grupos com o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD e apenas a  $\beta$ -CD como tratamento, utilizando a N-acetilcisteína como fármaco-controle positivo. Todos os grupos foram realizados na gaiola metabólica.

- Grupo Controle  
Foi administrado Tween-80 2% em solução salina 0,9% por via oral nos animais (n=6), uma vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada salina 0,9% por via i.p.

- Grupo IRA  
Foi administrado Tween-80 2% em solução salina 0,9% por via oral nos animais (n=8), uma vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada cisplatina na dose de 15 mg/kg por via i.p..
- Grupo IRA tratado com N-acetilcisteína  
Foi administrada N-acetilcisteína na dose de 120 mg/kg dissolvida em Tween-80 2% em solução salina 0,9%, por via oral, nos animais (n=6) uma vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada, por via i.p., cisplatina na dose de 15 mg/kg.
- Grupo IRA tratado com  $\beta$ -CD (25 mg/kg)  
Foi administrado  $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg, dissolvido em Tween-80 2% em solução salina 0,9%, por via oral, nos animais (n=8) uma vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada, por via i.p., cisplatina na dose de 15 mg/kg.
- Grupo IRA tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25 mg/kg)  
Foi administrado [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 6,25 mg/kg, dissolvido em Tween-80 2% em solução salina 0,9%, por via oral, nos animais (n=8) uma vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada, por via i.p., cisplatina na dose de 15 mg/kg.
- Grupo IRA tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD (12,5 mg/kg)  
Foi administrado [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 12,5 mg/kg, dissolvido em Tween-80 2% em solução salina 0,9%, por via oral, nos animais (n=8) uma vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada, por via i.p., cisplatina na dose de 15 mg/kg.
- Grupo IRA tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD (25 mg/kg)  
Foi administrado [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg, dissolvido em Tween-80 2% em solução salina 0,9%, por via oral, nos animais (n=8) uma

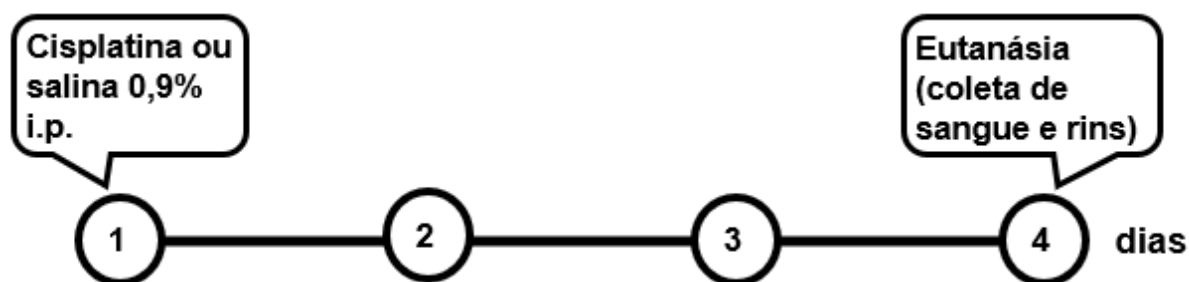
vez ao dia, durante 5 dias. No terceiro dia foi administrada, por via i.p., cisplatina na dose de 15 mg/kg.

## 4.4 Desenho Experimental

### 4.4.1 Curva dose-resposta

Para os experimentos de curva dose-resposta, a cisplatina (ou a salina), foi administrada e após o período de 72h (**Figura 6**) os animais foram anestesiados com xilazina (dose: 10mg/Kg) e cetamina (dose: 100mg/Kg) via i.p. Logo após foi realizada a punção cardíaca para a coleta de sangue. Desta forma a eutanásia dos animais ocorreu por hipovolemia. O sangue coletado foi centrifugado a 4500 rpm/5 min e armazenado a -80 °C, e posteriormente foi feita a dosagem de ureia e creatinina. Após o óbito, ocorreu a coleta dos rins, o direito para a análise das concentrações de GSH, atividade de MPO e o esquerdo para análise histopatológica.

**Figura 6** – Desenho experimental da curva dose-resposta.



Fonte: Elaborado pelo autor.

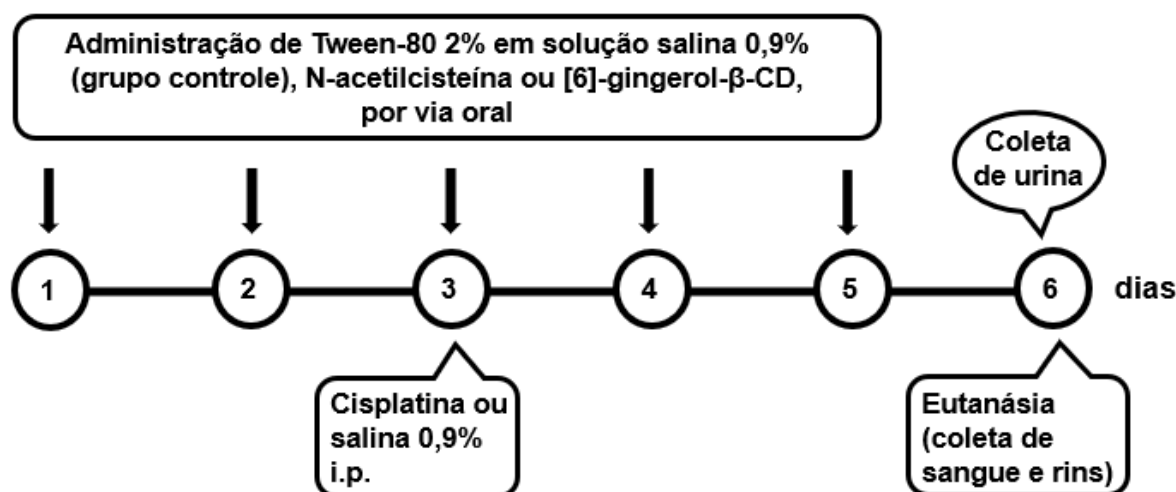
### 4.4.2 Grupos com tratamento

Para esses grupos foram utilizadas as gaiolas metabólicas, nas quais os animais foram mantidos durante todo o experimento. Primeiramente, os animais foram colocados nas gaiolas, 48h antes do início dos experimentos, para que se adaptassem à gaiola metabólica. Após esse período se deu início o experimento com a administração de Tween-80 2% em solução salina 0,9% (para o grupo controle), [6]-

gingerol- $\beta$ -CD, nas doses de 6,25, 12,5 e 25 mg/kg,  $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg e N-acetilcisteína, na dose de 120 mg/kg, todos dissolvidos em Tween-80 2% em solução salina 0,9%. Os compostos foram administrados duas vezes ao dia, por via oral, durante 5 dias. No terceiro dia após o início dos tratamentos foi administrada a cisplatina na dose de 15 mg/kg (**Figura 7**) (KUHAD et al., 2006).

Após os 5 dias de tratamento foi coletada a urina das últimas 24 horas de experimento que estava armazenada nos tubos coletores das gaiolas. Esta urina foi quantificada, centrifugada e armazenada em microtubos a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, os animais foram anestesiados com xilazina (dose: 10mg/Kg) e cetamina (dose: 100mg/Kg) via i.p., para a coleta sanguínea por punção cardíaca, para isso foram utilizadas seringas lavadas com heparina 20%. O sangue coletado foi centrifugado a 4500 rpm/5 min e armazenado em microtubos a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após o óbito, foram coletados os rins, o esquerdo para analisar os marcadores de danos oxidativos e inflamatórios (armazenados em microtubos  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), e o direito foi armazenado em formol 10% tamponado para análise histopatológica.

**Figura 7** – Desenho experimental dos grupos com tratamento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 4.5 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos

Foram realizadas dosagens de ureia e creatinina nas amostras de plasma de todos os grupos. Para tanto, foram utilizados os kits de Ureia-CE e Creatinina-K, respectivamente, fornecidos comercialmente pela fabricante Labtest®. Nas amostras

de urina foram feitas dosagens de proteína urinária e creatinina urinária, utilizando os kits SensiProt e Creatinina-K, respectivamente, ambos fornecidos pela empresa acima citada. Os protocolos de diagnóstico seguiram as recomendações do fabricante e os resultados foram expressos em mg/dL.

#### 4.6 Cálculo do *Clearance* de Creatinina

Através do método de Jaffé modificado, foram mensuradas a creatinina plasmática e urinária, utilizando o kit anteriormente citado. A função renal dos animais foi avaliada através da estimativa da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) pelo *clearance* de creatinina calculado da seguinte forma (YAMABE et al., 2007):

$$\text{CLcr} = [\text{CrU} \times \text{Vu} / \text{CrP}] \times [1000 / \text{Peso}] \times [1 / 1440]$$

Onde:

**Vu** = volume de urina (mL)

**CLcr** = resultado em mL/min/kg

**CrU** = concentração urinária de creatinina (mg/dL)

**CrP** = concentração plasmática de creatinina (mg/dL)

**Peso** = peso do animal em gramas

#### 4.7 Avaliação do Dano Tubular: Gama-GT urinária

Para verificar o dano tubular foi avaliado a atividade da enzima Gama Glutamil Transferase (Gama-GT) na urina dos animais (HENNEMANN et al., 1997; GUIMARÃES, 2000; MELCHERT et al., 2007). Para este fim, foi utilizado o kit comercial Gama GT Liquiform do fabricante Labtest®. Para os protocolos de diagnóstico foram seguidas as recomendações do fabricante e os resultados foram obtidos em U/L e expressos U/mg de creatinina. Com base em estudos anteriores, essa razão nos possibilita retirar a interferência da variação do fluxo urinário, o qual pode causar erros na interpretação dos valores da Gama-GT (GUIMARÃES, 2000).

## **4.8 Avaliação da Inflamação**

### **4.8.1 Atividade da Mieloperoxidase (MPO)**

Para avaliação da inflamação foi verificada a atividade da enzima MPO, que consiste num marcador de invasão leucocitária do tecido. A MPO está presente em leucócitos da linhagem granulocítica e monocítica, apresentando papel fundamental na produção de EROs. Para a análise, o tecido renal foi homogeneizado com brometo de hexadeciltrimetilamônio a 0,5% (HTAB; pH 6,0) em tampão de fosfato de potássio para preparar um homogeneizado a 10%. O homogeneizado foi centrifugado a 5000 rpm por 7 min a 4°C, e o sobrenadante foi utilizado para a análise. A atividade da enzima foi aferida utilizando peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 1% como substrato. Durante o ensaio, à medida que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é degradado e ocorre a produção de ânion superóxido, responsável pela conversão de o-dianosidina em um composto de cor marrom (BRADLEY et al., 1982).

## **4.9 Avaliação da Atividade Antioxidante**

### **4.9.1 Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)**

O princípio desse ensaio se dá na utilização do ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoico) (DTNB), usado para verificar as concentrações de GSH em amostras de tecidos. O DTNB reage com GSH formando o ácido 2-nitro-5-mercaptop-benzoico (TNB) de cor amarela, detectado por espectrofotometria (SEDLAK & LINDSAY, 1968). Um homogeneizado a 10% de tecido renal em solução gelada de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,02M, foi utilizado para avaliar as alterações no conteúdo tecidual de GSH. Utilizou-se 100 µL de cada amostra (homogeneizado a 10% em tampão fosfato) e adicionou-se 80 µL de água destilada e 40 µL de TCA (ácido tricloro acético) 50%. O material foi agitado em vórtex e centrifugado a 3000 rpm/15 min. Deste material foi retirado 100 µL do sobrenadante, ao qual adicionou-se 200 µL de tampão TRIS 0,4M (pH=8,9) e 10 µL de DTNB 0,01M. O ensaio foi avaliado na absorbância de 412 nm e os resultados foram expressos em µg/mg de tecido.

#### **4.10 Análise Histopatológica**

Para o estudo histopatológico foi utilizado o rim direito, que foi seccionado transversalmente e armazenado em cassete histológico imerso em formol 10% tamponado. Posteriormente as amostras foram processadas para realização do exame histológico em processador automático de tecidos (histotécnico). Logo após foram desidratadas em álcool em concentrações crescentes de 70 a 100%. Em seguida foi realizada a inclusão do material em parafina. Utilizando o banho histológico os blocos de parafina foram cortados em 5 µm de espessura, utilizando um micrótomo de impacto. O material foi colocado em lâminas histológicas para coloração pela técnica de hematoxilina e eosina (HE).

As lâminas foram analisadas segundo o trabalho de Kuhad e colaboradores, com algumas adaptações (KUHAD et al., 2006). Foram feitas análises dos scores onde foram avaliados os seguintes critérios: perda de borda em escova, edema intersticial, dilatação tubular, necrose epitelial, elencos hialinos e infiltração de células inflamatórias. Para cada critério foi dado um score para a gravidade do dano: nenhum dano (0), leve (1), moderado (2) e grave (3). As lâminas foram analisadas em microscopia óptica convencional e a avaliadas por histopatologista habilitado.

As análises histopatológicas foram realizadas nas amostras da curva dose-resposta.

#### **4.11 Avaliação de Marcadores por PCR Quantitativo em Tempo Real**

##### **4.11.1 Extração de RNA**

Foi feito um homogenato com trizol (Sigma Aldrich ® EUA), onde cada tecido foi posto em contato com uma esfera de metal estéril, e macerado por meio do equipamento Tissuelyzer LT® (Qiagen, EUA) seguido de centrifugação a 4 °C na velocidade 12000G por 15 min. Após a centrifugação, foi coletado o sobrenadante e a este foram adicionados 200 uL de 1-Bromo-3-Cloropropano (BCP, Sigma Aldrich ® EUA). Essa solução foi homogeneizada com auxílio de um vórtex por 15 segundos e,

em seguida, foi incubada por 5 minutos à temperatura ambiente. Seguiu-se a extração centrifugando a última solução em temperatura de 4 °C na velocidade de 12000G por 15 minutos. Após centrifugação, o sobrenadante transparente, no qual continha o RNA, foi cuidadosamente coletado e adicionado em um novo microtubo de 1,5 mL (aproximadamente 500 uL). Foram adicionados 500 uL de isopropanol ao sobrenadante, seguido de vortexação e centrifugação a 4°C na velocidade de 12000G por 20 minutos. Após a centrifugação observamos um precipitado de RNA. Este precipitado foi lavado com 1mL de álcool etílico a uma concentração de 75%, vortexado por 15 segundos e centrifugado por 5 min na temperatura de 4°C na velocidade de 7500G. Este processo foi repetido 3 vezes. Após a terceira lavagem retirou-se completamente o álcool do microtubo e permitiu-se que o conteúdo líquido fosse completamente evaporado. Após a finalização do processo de extração, 1µL de RNA total de cada amostra foi dosado pelo Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) e através do Fluorímetro Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA®) com a finalidade de verificar qualidade das amostras e quantificar suas concentrações para fornecer RNA para transcrição em DNA complementar (cDNA), respectivamente.

#### **4.11.2 Síntese de cDNA**

O RNA total isolado armazenado a -80 °C seguiu para a síntese de cDNA por meio do GoScript cDNA Synthesis Kit (PROMEGA®, Wisconsin, EUA), de acordo com instruções do fabricante. O protocolo da reação incluiu 2,0 µL da enzima transcriptase reversa, 4 µL do GoScript Reaction Buffer (solução constituída de oligonucleotídeos tampão salino e oligo dT), 500 ng/µL de RNA extraído das amostras e completou-se o volume total até 20µL com água livre de nuclease. O protocolo padrão no termociclador Veriti Applied Biosystems® (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, EUA) foi 25°C por 5 min, 42°C por 60 min e 70°C por 15 min. O cDNA sintetizado foi armazenado em freezer -20 °C até a amplificação pela Reação de Polimerase em Cadeia em Tempo Real (qPCR).



### 4.11.3 PCR quantitativo em Tempo Real (qPCR)

A transcrição relativa dos genes, molécula de injúria renal-1 (KIM-1), inibidor tecidual de metaloproteinase-2 (TIMP-2), ligante de quimiocina 1 (CxCL-1), fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), superóxido dismutase citosólica (SOD1s), heme oxigenase 1 (hemox-1). Foi utilizado o gene codificador para gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), como gene de referência. A **Tabela 3** mostra as sequências dos iniciadores de DNA (primers) dos genes investigados, que foi obtida no sítio eletrônico do National Center for Biotechnology Information (NCBI).

**Tabela 3** – Sequência de iniciadores de PCR para os genes avaliados. (gene de referência: GAPDH).

Genes	Sequência de Iniciadores		Nº NCBI
	Senso 5' – 3'	Antisenso 5' – 3'	
KIM-1	TGGTTGCCTTCCGTGTCTCT	TCAGCTCGGGAATGCACAA	NM_134248.2
TIMP-2	TGGGACACGCTTAGCATCAC	CGGGGAGGAGATGTAGCAAG	NM_008706.5
CxCL-1	GCTGGGATTCACCTCAAGAA	TGGGGACACCTTTTAGCATC	NM_008176.3
NF- $\kappa$ B	AGGCTTCTGGGCCTTATGTG	TGCTTCTCTCGCCAGGAATAC	NM_009045.5
SOD1s	GGACAATACACAAGGCTGTACC	CAGTCACATTGCCAGGTCTC	NM_011434.2
Hemox-1	GCCACCAAGGAGGTACACAT	GCTTGTTGCGCTCTATCTCC	NM_010442.2
GAPDH	TGGCCTTCCGTGTTCCCTAC	GAGTTGCTGTTGAAGTCGCA	NM_008084.3

Fonte: Elaborado pelo autor; KIM-1: molécula de injúria renal-1; TIMP-2: inibidor tecidual de metaloproteinase-2; CxCL-1: ligante de quimiocina 1; NF- $\kappa$ B: fator nuclear  $\kappa$ B; SOD1s: Superóxido dismutase 1; Hemox-1: heme oxigenase 1; GAPDH: Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase.

Para a reação foram utilizados 7,5  $\mu$ L de GoTaq® qPCRMaster Mix (PROMEGA, Wisconsin, EUA), 1,0  $\mu$ L de cada iniciador (0,8 nM) e 1,0  $\mu$ L de cDNA das amostras, completando com água livre de nuclease até um volume final de 15 $\mu$ L. Inicialmente a enzima foi ativada por um período de 2 minutos a uma temperatura de 95°C. Em seguida, todos os 45 ciclos transcorridos tiveram uma etapa de desnaturação por 15 segundos a 95°C seguido de um passo de anelamento e extensão por 1 minuto a uma temperatura de 60°C. Todas as amplificações foram avaliadas quanto à curva de fusão, realizada para assegurar a especificidade da amplificação e detectar a não formação

de dímeros de iniciadores ou qualquer outro produto inespecífico. Para tanto a temperatura foi acrescida em 0,5 °C a cada 5 segundos iniciando em 60 °C até 95 °C. Os dados foram obtidos com o software do sistema QuantStudio5 (ThermoFisher Scientific®, Massachusetts, EUA) e foram baseados nos valores do ciclo de limiar, em que a fluorescência observada é de 10 vezes maior do que a fluorescência basal para cada ensaio de qPCR.

Os valores do ciclo quantitativo (Cq ou Ct) para os genes testados foram exportados para o Microsoft Excel (Microsoft®, Estados Unidos) e os níveis relativos de mRNA foram calculados de acordo com a metodologia  $2^{-\Delta\Delta CT}$ , qual como descrito por Livak e Schmittgen (2001).

#### **4.12 Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada com o software GraphPad Prism®, versão 6.0. Para verificar a normalidade dos dados foi feito o teste *Kolmogorov-Smirnov*. Realizou-se estatística descritiva seguido de teste de comparações múltiplas por meio de análise de variância (ANOVA), seguido do pós-teste Dunnet's (para o experimento de curva dose-resposta) e teste Bonferroni's (para os grupos com tratamento) (dados paramétricos) ou aplicação do teste *Kruskal-Wallis* seguido do pós-teste Dunn's (dados não paramétricos). Para os dados obtidos na expressão gênica realizou-se a aplicação do teste de *Mann Whitney*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para  $P < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

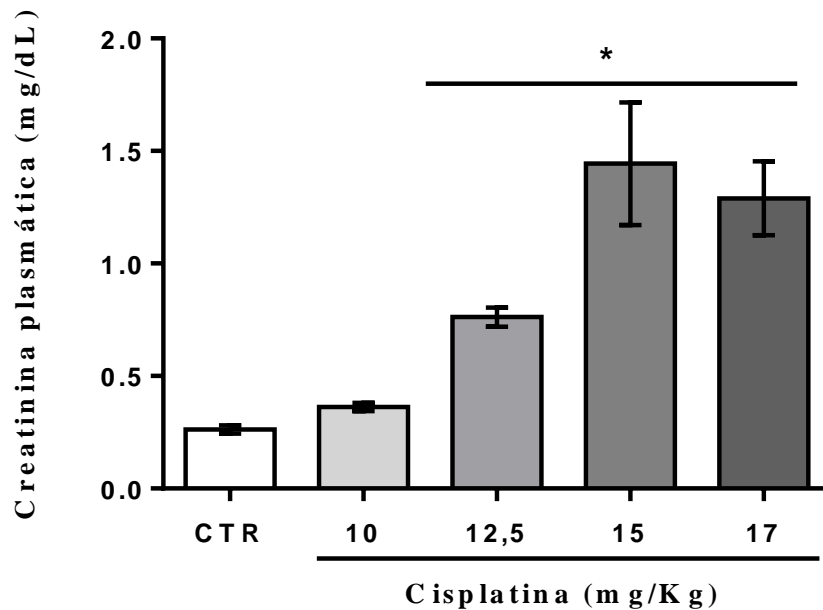
### 5.1 Curva Dose-Resposta

Inicialmente foi avaliada a dose de 20 mg/kg de cisplatina para a indução da IRA, contudo foi observado que essa dose causava uma alta mortalidade nos animais. Para escolher a melhor dose de cisplatina para induzir a IRA nos animais, foi feita uma curva dose-resposta. Primeiramente foi avaliada a dose de 10 mg/kg, porém essa dose não apresentou diferença estatística em relação ao controle. Posteriormente foram avaliadas as doses de 12,5, 15 e 17 mg/kg, evitando uma dose muito próxima ou acima de 20 mg/kg. Essas doses apresentaram diferença estatística em relação ao controle, porém as doses de 15 e 17 mg/kg apresentaram uma lesão bem estabelecida. Dessa forma a dose de 15 mg/kg foi a escolhida para a indução da IRA. Foram administradas em dose única por via i.p. Os resultados desses experimentos serão apresentados a seguir, justificando a escolha da melhor dose de cisplatina, utilizada nos experimentos com tratamento.

#### 5.1.1 Parâmetros bioquímicos plasmáticos

De acordo com o **Gráfico 1**, com relação à creatinina plasmática, foi possível observar que a dose de 10 mg/kg ( $0,36 \pm 0,018$  mg/dL) não teve diferença significativa quando comparada ao grupo controle ( $0,26 \pm 0,018$  mg/dL). Já as doses de 12,5 mg/kg ( $0,76 \pm 0,042$  mg/dL), 15 mg/kg ( $1,44 \pm 0,273$  mg/dL) e 17 mg/kg ( $1,29 \pm 0,163$  mg/dL), tiveram diferenças significativas em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

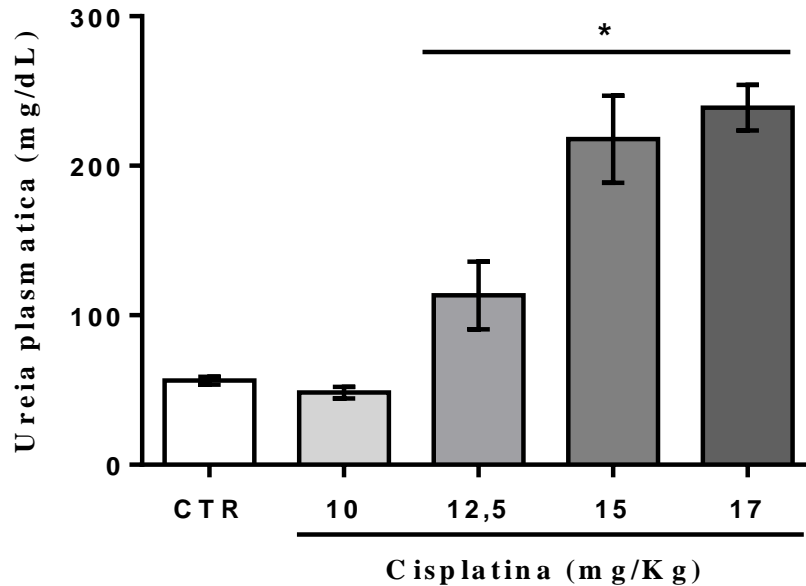
**Gráfico 1** – Creatinina plasmática na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.



Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão dos níveis séricos de creatinina na IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas, nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg. \* $P < 0,05$  em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% e Tween-80 2% via i.p. Análise estatística feita pelo teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's.

No **Gráfico 2**, é possível observar que não houve diferença significativa nos valores de ureia na dose de 10 mg/kg ( $48,25 \pm 3,92$  mg/dL) com relação ao grupo controle ( $56,2 \pm 2,60$  mg/dL). Porém, as doses de 12,5 mg/kg ( $113,3 \pm 22,73$  mg/dL), 15 mg/kg ( $217,9 \pm 29,11$  mg/dL) e 17 mg/kg ( $238,8 \pm 15,29$  mg/dL) apresentaram um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de ureia, em comparação ao grupo controle.

**Gráfico 2** – Níveis de ureia plasmática na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.

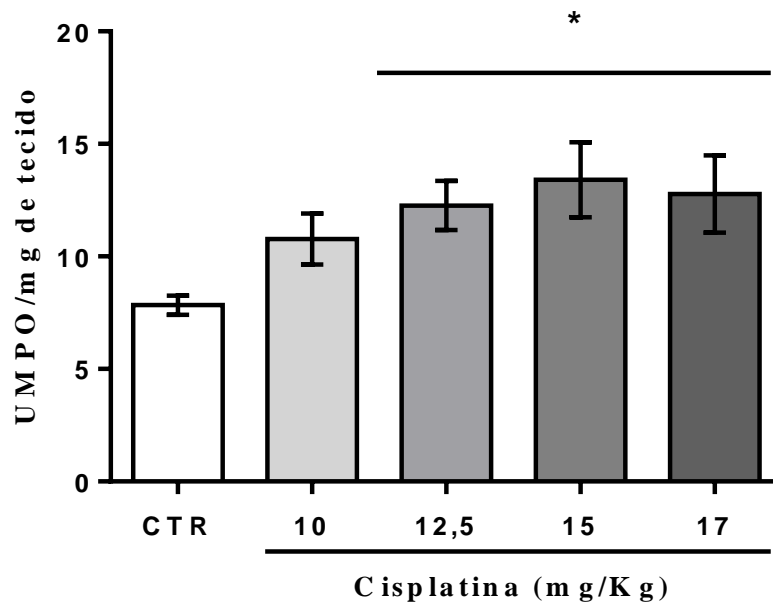


Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão dos níveis séricos de ureia na IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas, nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg. \* $P < 0,05$  em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% e Tween-80 2% via i.p. Análise estatística feita por pelo teste 1 way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

### 5.1.2 Atividade de mieloperoxidase (MPO) no tecido renal

A partir do **Gráfico 3** pode-se verificar que não houve diferença significativa entre o grupo controle ( $7,83 \pm 0,429$  UMPO/mg de tecido) e a dose de 10 mg/kg ( $10,77 \pm 1,139$  UMPO/mg de tecido) em relação à atividade de MPO no tecido renal. Enquanto as doses de 12,5 mg/kg ( $12,26 \pm 1,092$  UMPO/mg de tecido), 15 mg/kg ( $13,41 \pm 1,663$  UMPO/mg de tecido) e 17 mg/kg ( $12,77 \pm 1,723$  UMPO/mg de tecido), apresentaram um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da atividade de MPO, com relação ao grupo controle.

**Gráfico 3** – Atividade de MPO em tecido renal na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.

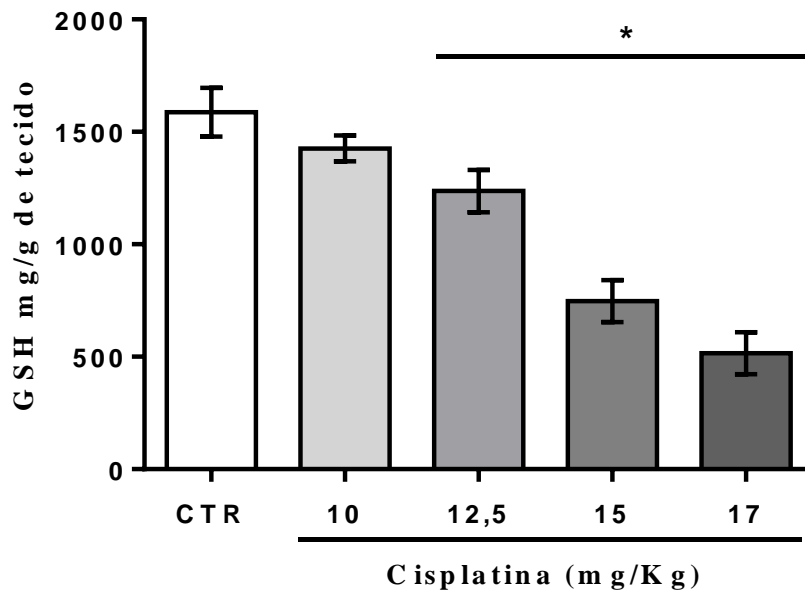


Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da atividade de mieloperoxidase (MPO) na IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas, nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg. \* $P < 0,05$  em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% e Tween-80 2% via i.p. A análise estatística foi feita pelo teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's.

### 5.1.3 Níveis de glutathiona reduzida (GSH) no tecido renal

Conforme o **Gráfico 4** não foi possível observar diferença significativa nos níveis de GSH do tecido renal entre os animais do grupo controle ( $1588,0 \pm 108,3$  GSH/mg de tecido) e a dose de 10 mg/kg ( $1426,0 \pm 57,42$  GSH/mg de tecido). Já nas doses de 12,5 mg/kg ( $1237,0 \pm 94,19$  GSH/mg de tecido), 15 mg/kg ( $747,2 \pm 93,28$  GSH/mg de tecido) e 17 mg/kg ( $515,8 \pm 93,70$  GSH/mg de tecido) houve uma redução ( $P < 0,05$ ) nos valores de GSH em relação ao grupo controle.

**Gráfico 4** – Atividade de GSH em tecido renal na IRA induzida por cisplatina nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg.



Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da atividade de glutatona reduzida (GSH) na IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas, nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg. \* $P < 0,05$  em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% e Tween-80 2% via i.p. A análise estatística foi feita pelo teste 1 way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

#### 5.1.4 Análise histopatológica do tecido renal

A avaliação histopatológica foi realizada com base em scores: nenhum dano (0), leve (1), moderado (2) e grave (3), como demonstrado na **Tabela 4**. Com base nisso, foi possível observar que o grupo controle (**Figura 8A**) não apresentou alterações estruturais, o grupo de animais com a dose de 10 mg/kg (**Figura 8B**) de cisplatina apresentou danos leves, assim como o grupo com a dose de 12,5 mg/kg (**Figura 8C**). Já os grupos de 15 (**Figura 8D**) e 17 mg/kg (**Figura 8E**) apresentaram danos moderados a graves.

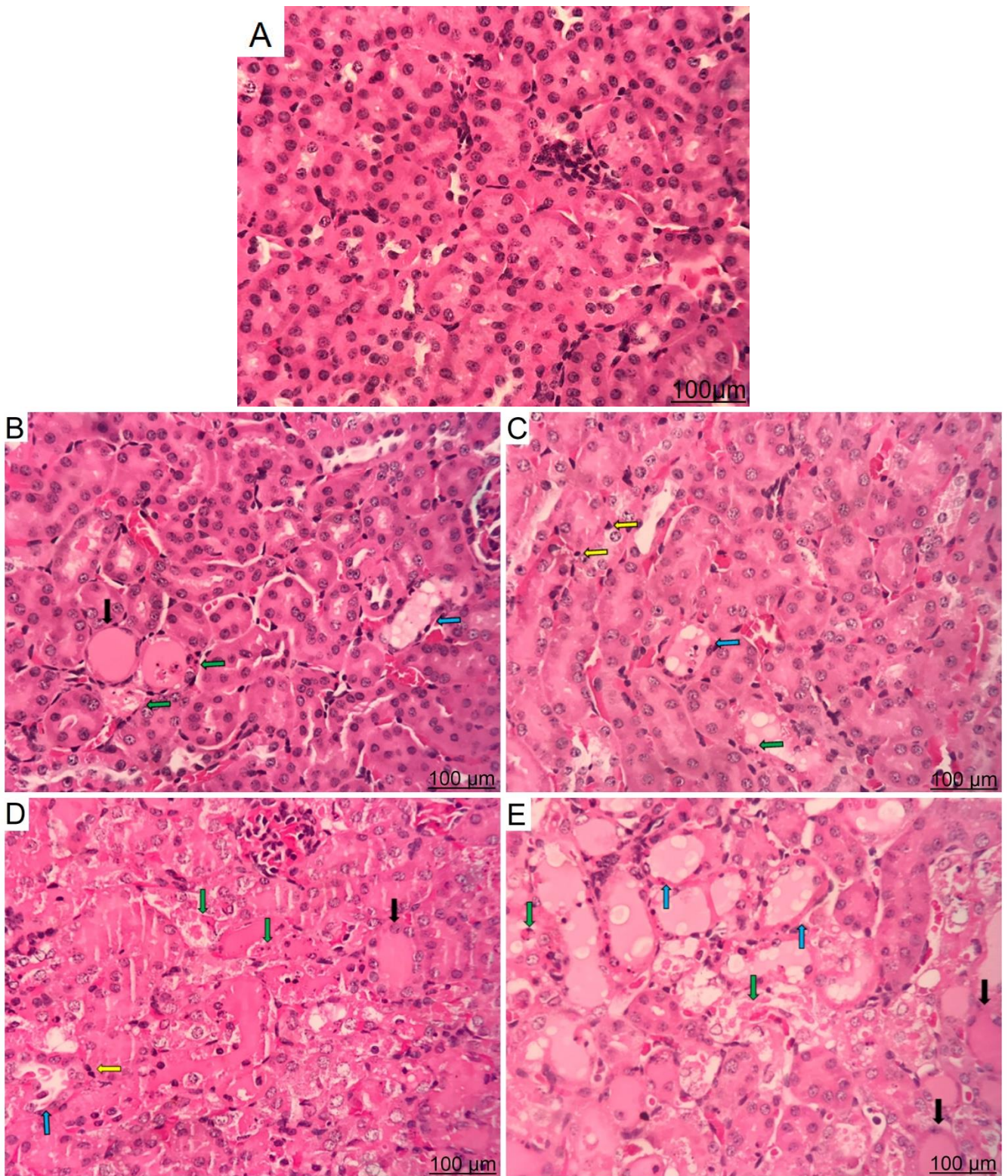
**Tabela 4** – Análise histopatológica dos grupos controle ou com cisplatina (Cis) administrada nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg via i.p.

<b>Grupos</b>	<b>Perda de borda em escova</b>	<b>Edema intersticial</b>	<b>Dilatação tubular</b>	<b>Necrose epitelial</b>	<b>Elencos hialinos</b>	<b>Infiltrado inflamatório</b>
<b>Controle</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-0)
<b>Cis10</b>	1 (0-1)	1 (0-1)	1 (0-1)	0,5 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-1)
<b>Cis12,5</b>	1 (1-3) #	1 (1-2) #	1 (1-3) #	1 (1-2) #	1 (1-3) #	1 (1-2) #
<b>Cis15</b>	3 (0-3) #	2 (1-2) #	3 (0-3) #	2,5 (0-3) #	3 (0-3) #	2 (0-2) #
<b>Cis17</b>	3 (3-3) #	3 (2-3) #	3 (3-3) #	3 (2-3) #	3 (3-3) #	2 (2-2) #

Os valores representam a mediana (mín-máx) dos scores microscópicos das alterações morfológicas nos tecidos de animais após a indução da IRA por cisplatina por via i.p. O símbolo +/- representa uma frequência igual para nenhum dano e dano leve. #P<0,05 em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% e Tween-80 2% via i.p. A análise foi realizada pelo teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's.



**Figura 8** – Alterações histopatológicas no experimento de curva dose-resposta, nas doses de 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg de cisplatina e grupo controle.



A) grupo controle; B) dose de 10 mg/kg; C) dose de 12,5 mg/kg; D) dose de 15 mg/kg; E) dose de 17 mg/kg. Seta preta: Elencos Hialinos; seta verde: Necrose de células epiteliais tubulares; seta azul: Dilatação tubular; seta amarela: Células inflamatórias.

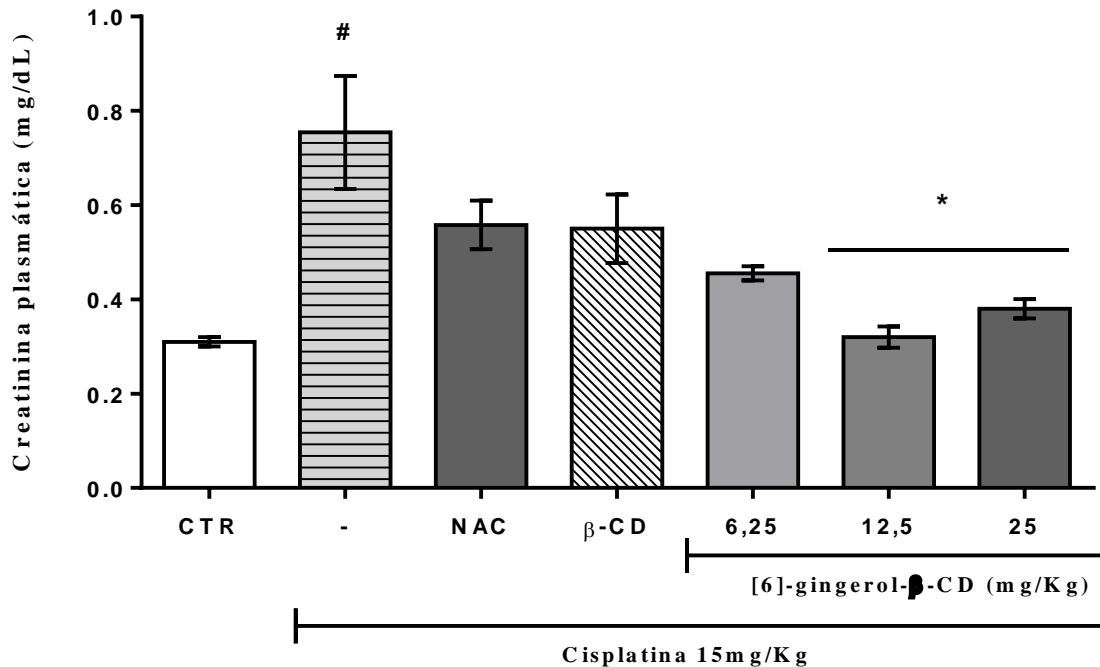
## 5.2 Tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína

Após a escolha da melhor dose de cisplatina para induzir a injúria renal aguda (15 mg/kg), deu-se início ao tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 6,25, 12,5 e 25 mg/kg, e N-acetilcisteína (NAC) na dose de 120 mg/kg, utilizando outro grupo de animais e o auxílio da gaiola metabólica. Os resultados desses experimentos serão apresentados a seguir.

### 5.2.1 Avaliação dos parâmetros Bioquímicos plasmáticos

Para avaliação dos parâmetros bioquímicos foram analisados creatinina e ureia plasmáticas. No **Gráfico 5**, é possível observar que houve uma diferença significativa entre o grupo controle ( $0,31 \pm 0,010$  mg/dL) e o grupo IRA induzida pela cisplatina ( $0,75 \pm 0,119$  mg/dL), devido ao aumento dos níveis de creatinina plasmática. Contudo, houve uma queda nos níveis de creatinina após o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 12,5 mg/kg ( $0,32 \pm 0,022$  mg/dL) e 25 mg/kg ( $0,38 \pm 0,020$  mg/dL). Porém o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose 6,25 mg/kg ( $0,45 \pm 0,015$  mg/dL), NAC ( $0,55 \pm 0,051$  mg/dL) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $0,55 \pm 0,072$  mg/dL) não apresentaram diferenças significativas em comparação ao grupo IRA induzida por cisplatina, também não apresentando diferença em relação ao grupo controle.

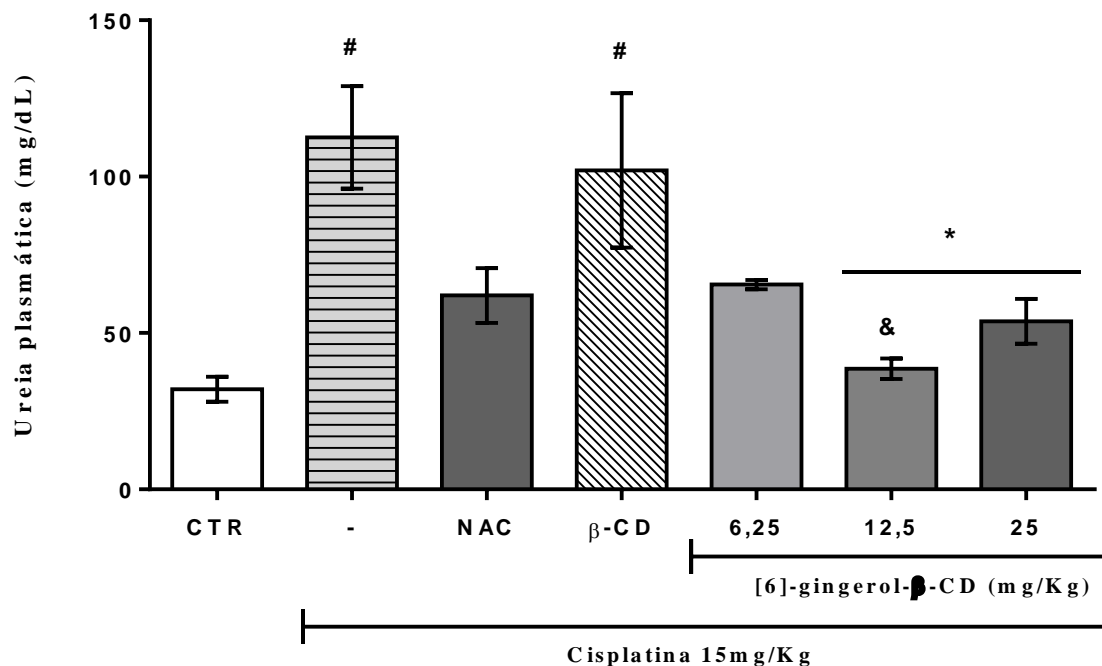
**Gráfico 5** – Níveis plasmáticos de creatinina com o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.



Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão dos níveis plasmáticos de creatinina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). \* $P < 0,05$  em relação ao grupo cisplatina. A análise foi realizada pelo teste 1 way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

A partir do **Gráfico 6**, pode-se observar que os níveis plasmáticos de ureia dos animais se elevaram com a administração de cisplatina 15 mg/kg ( $112,6 \pm 16,42$  mg/dL) em comparação ao grupo controle ( $32,0 \pm 4,0$  mg/dL). Porém, os grupos tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD, nas doses de 12,5 mg/kg ( $38,5 \pm 3,25$  mg/dL) e 25 mg/kg ( $53,7 \pm 7,17$  mg/dL) apresentaram uma queda significativa nos níveis de ureia, em comparação ao grupo IRA induzida por cisplatina. Contudo, os grupos tratados com 6,25 mg/kg de [6]-gingerol- $\beta$ -CD ( $65,5 \pm 1,50$  mg/dL), NAC 120 mg/kg ( $62,0 \pm 8,76$  mg/dL) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $102,0 \pm 24,72$  mg/dL), não apresentaram diferença significativa nos níveis de ureia, em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina. Porém, os grupos tratados com 6,25 mg/kg de [6]-gingerol- $\beta$ -CD e NAC também não apresentaram diferença em relação ao controle.

**Gráfico 6** – Níveis plasmáticos de ureia com o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.

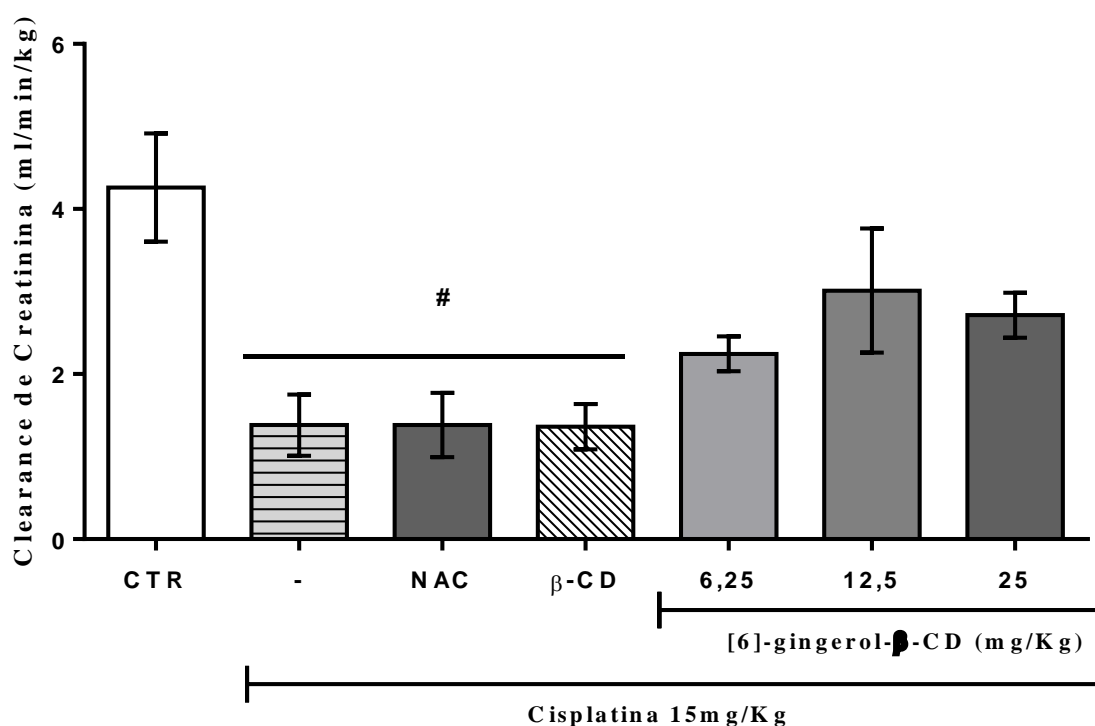


Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão dos níveis plasmáticos de ureia após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P$ <0,05 em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). \* $P$ <0,05 em relação ao grupo cisplatina. \$ $P$ <0,05 em relação ao grupo tratado com NAC. A análise foi realizada pelo teste 1 way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

### 5.2.2 Avaliação da função renal

Como pode ser observado no **Gráfico 7**, a função renal foi avaliada através do cálculo do *clearance* de creatinina. O grupo tratado com cisplatina 15 mg/kg ( $1,38 \pm 0,371$  ml/min/kg) apresentou uma queda no *clearance* de creatina, com relação ao grupo controle ( $4,26 \pm 0,654$  ml/min/kg). Os grupos tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD, nas doses de 6,25 mg/kg ( $2,24 \pm 0,210$  ml/min/kg), 12,5 mg/kg ( $2,57 \pm 0,752$  ml/min/kg) e 25 mg/kg ( $2,42 \pm 0,362$  ml/min/kg) não apresentaram um aumento no *clearance* de creatinina em comparação ao grupo cisplatina. Já os grupos tratados com NAC 120 mg/kg ( $1,38 \pm 0,387$  ml/min/kg) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $1,36 \pm 0,274$  ml/min/kg) apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle. Porém, os grupos tratados com gingerol complexado à  $\beta$ -CD também não foram estatisticamente diferentes ao grupo controle.

**Gráfico 7** – Avaliação da Taxa de Filtração Glomerular na IRA induzida por cisplatina após tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.



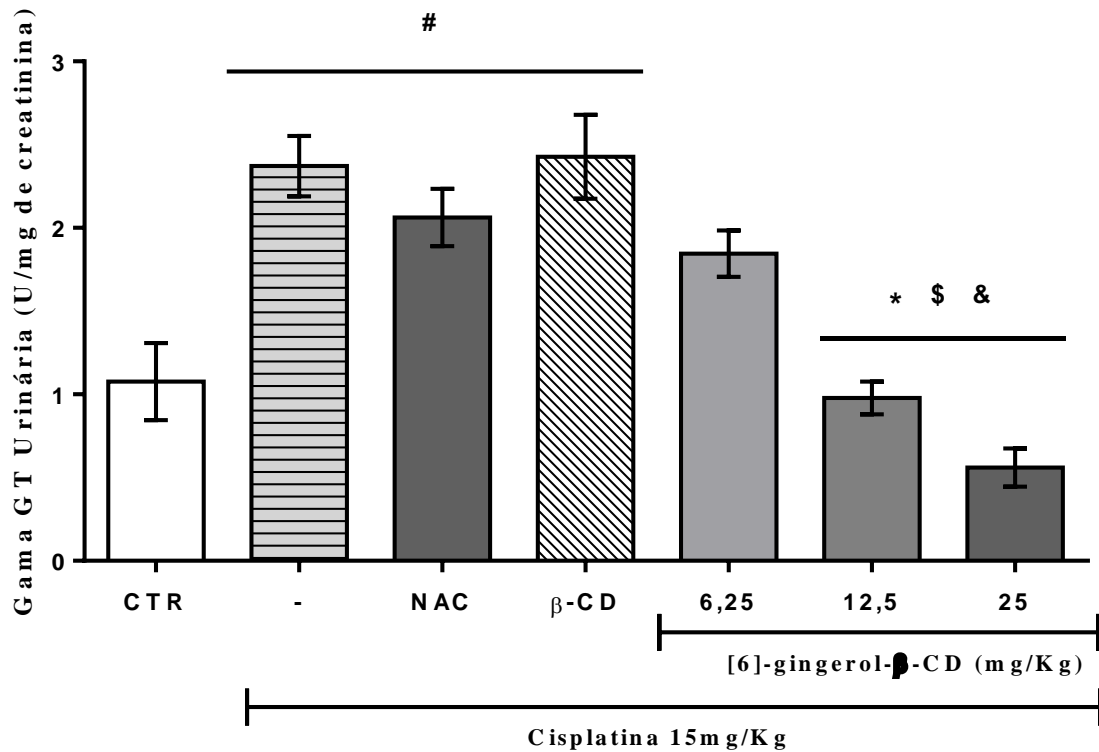
Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão do *clearance* de creatinina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). A análise foi realizada pelo teste 1 way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

### 5.2.3 Avaliação do dano tubular

O dano tubular foi analisado pela excreção/atividade da enzima gama glutamil transferase (gama-GT) na urina. A partir do **Gráfico 8** é possível observar que houve um aumento no grupo de animais que receberam apenas a cisplatina 15 mg/kg ( $2,37 \pm 0,182$  U/mg de creatinina) com relação ao grupo controle ( $1,07 \pm 0,231$  U/mg de creatinina). O tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD, nas doses de 12,5 mg/kg ( $0,97 \pm 0,098$  U/mg de creatinina) e 25 mg/kg ( $0,56 \pm 0,115$  U/mg de creatinina) foram capazes de diminuir esses parâmetros em comparação ao grupo cisplatina, o mesmo não foi observado na dose de 6,25 mg/kg ( $1,84 \pm 0,139$  U/mg de creatinina), porém, essa última dose também não apresentou diferença em relação ao grupo controle. Os

grupos tratados com NAC 120 mg/kg ( $2,06 \pm 0,172$  U/mg de creatinina) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $2,42 \pm 0,251$  U/mg de creatinina) não apresentaram diferença significativa em comparação ao grupo cisplatina.

**Gráfico 8** – Concentrações urinárias de Gama glutamil transferase (Gama-GT) na IRA induzida por cisplatina, após tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.



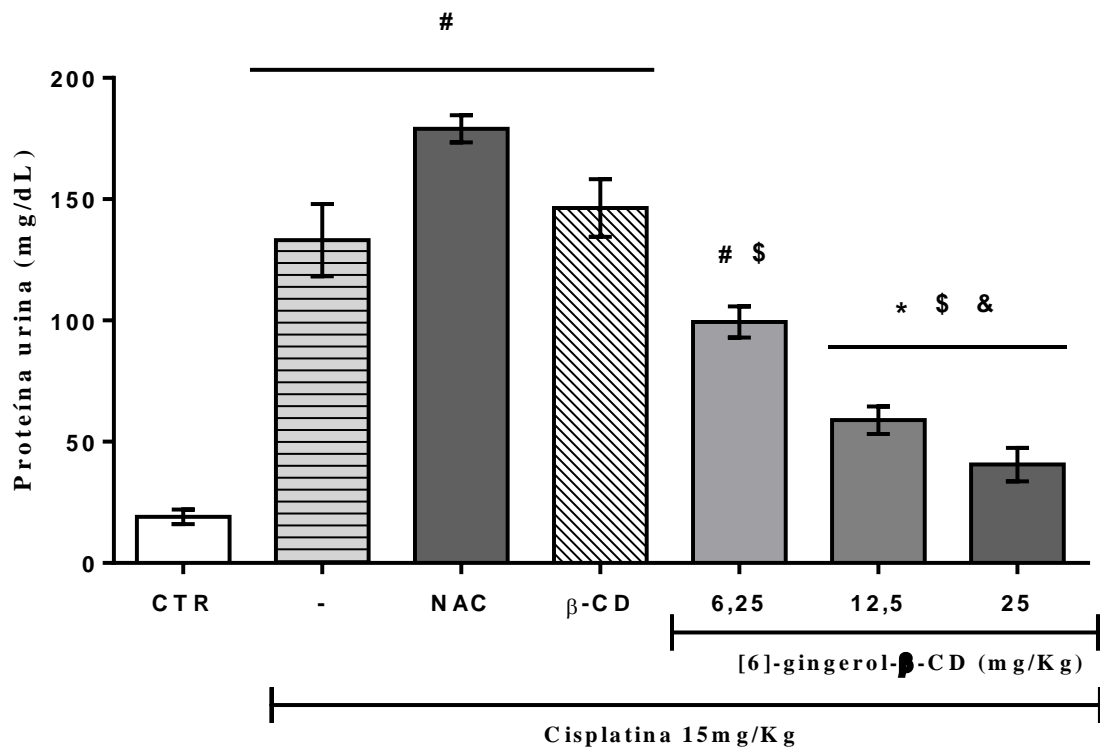
Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da atividade de Gama-GT urinária após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). \* $P < 0,05$  em relação ao grupo cisplatina. \$ $P < 0,05$  em relação ao grupo tratado com NAC. & $P < 0,05$  em relação ao grupo  $\beta$ -CD. A análise foi realizada pelo teste 1 way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

### 5.2.3 Avaliação da proteinúria

Como pode-se observar no **Gráfico 9**, o grupo que recebeu cisplatina 15 mg/kg ( $133,1 \pm 14,88$  mg/dL) teve uma grande perda de proteína na urina, com relação ao grupo controle ( $19,05 \pm 2,99$  mg/dL). O tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 12,5 mg/kg ( $55,6 \pm 5,07$  mg/dL) e 25 mg/kg ( $40,5 \pm 6,84$  mg/dL) foram capazes de reduzir significativamente essa perda de proteína na urina em relação ao grupo tratado com cisplatina, o que não foi observado com a dose de 6,25 mg/kg ( $99,4 \pm 6,44$  mg/dL).

Os grupos tratados com NAC 120 mg/kg ( $179,0 \pm 5,54$  mg/dL) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $146,4 \pm 11,88$  mg/dL) não demonstraram diferença significativa em comparação ao grupo cisplatina.

**Gráfico 9** – Avaliação das concentrações urinárias de proteína na IRA induzida por cisplatina, após tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.



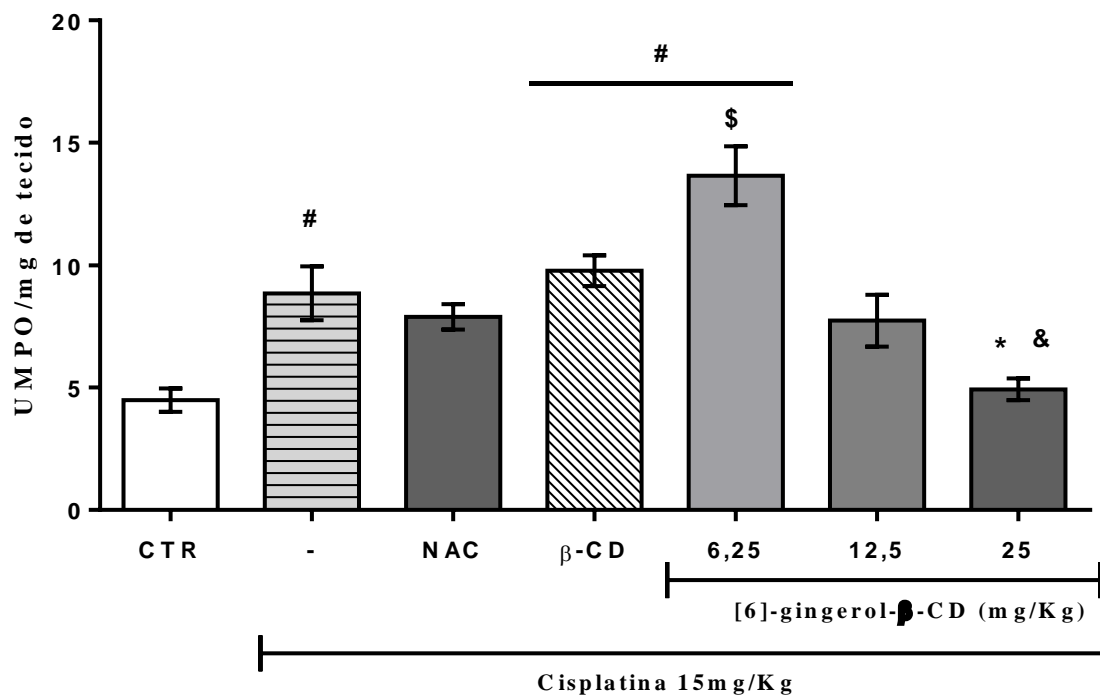
Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da concentração de proteína na urina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). \* $P < 0,05$  em relação ao grupo cisplatina. \$ $P < 0,05$  em relação ao grupo tratado com NAC. & $P < 0,05$  em relação ao grupo  $\beta$ -CD. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

#### 5.2.4 Avaliação da Atividade de MPO

No **Gráfico 10** é possível observar que houve um aumento da atividade de MPO no grupo que recebeu cisplatina 15 mg/kg ( $8,85 \pm 1,101$  UMPO/mg de tecido) em relação ao grupo controle ( $4,48 \pm 0,478$  UMPO/mg de tecido). Os tratamentos com NAC 120 mg/kg ( $7,88 \pm 0,523$  UMPO/mg de tecido) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $9,77 \pm 0,626$  UMPO/mg de tecido) e o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 6,25 mg/kg ( $13,66$

$\pm 1,204$  UMPO/mg de tecido) e 12,5 mg/ kg ( $8,144 \pm 0,956$  UMPO/mg de tecido) não conseguiram reverter os valores de MPO em comparação ao grupo cisplatina, não obtendo diferença significativa com esse grupo. Contudo a dose de 12,5 mg/kg e NAC também não apresentaram diferença em relação ao grupo controle. Já a dose de 25 mg/kg ( $5,29 \pm 0,513$  UMPO/mg de tecido) de [6]-gingerol- $\beta$ -CD, conseguiu diminuir a atividade de MPO em relação ao grupo cisplatina.

**Gráfico 10** – Avaliação da atividade de MPO na IRA induzida por cisplatina, após tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.



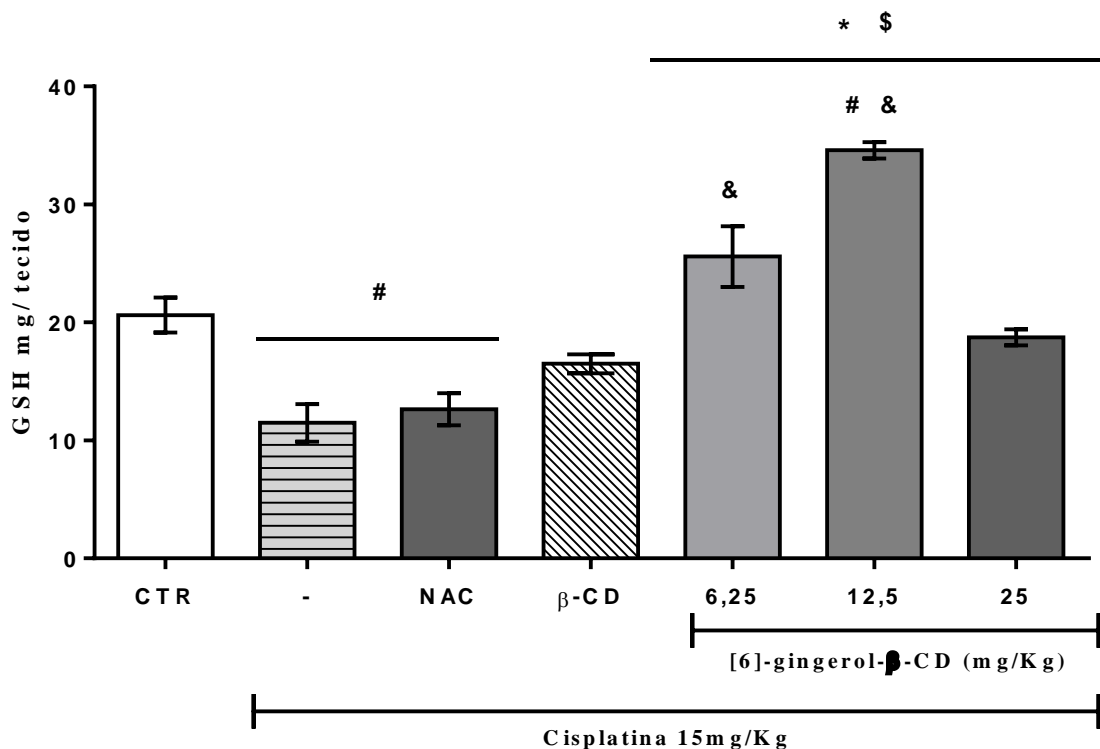
Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da atividade de MPO no tecido renal após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). \* $P < 0,05$  em relação ao grupo cisplatina. \$ $P < 0,05$  em relação ao grupo tratado com NAC. & $P < 0,05$  em relação ao grupo  $\beta$ -CD. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.



### 5.2.5 Avaliação do estresse oxidativo: GSH renal

No **Gráfico 11** pode-se observar que o grupo que recebeu cisplatina 15 mg/kg ( $11,48 \pm 1,58$  GSH/mg de tecido) teve uma queda nos níveis de GSH em comparação ao grupo controle ( $20,62 \pm 1,47$  GSH/mg de tecido). O tratamento com NAC 120 mg/kg ( $12,63 \pm 1,35$  GSH/mg de tecido) e  $\beta$ -CD 25 mg/kg ( $16,49 \pm 0,8007$  GSH/mg de tecido) não elevou os valores de GSH em comparação ao grupo cisplatina e não teve diferença significativa em relação a esse grupo. Já o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 6,25 mg/kg ( $25,58 \pm 2,572$  GSH/mg de tecido) 12,5 ( $34,59 \pm 0,693$  GSH/mg de tecido) e 25 mg/kg ( $18,74 \pm 0,691$  GSH/mg de tecido) aumentaram os níveis de GSH em comparação ao grupo cisplatina.

**Gráfico 11** – Avaliação dos níveis de GSH na IRA induzida por cisplatina, após tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína.



Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão dos níveis de GSH no tecido renal após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com NAC (120 mg/kg),  $\beta$ -CD (25 mg/kg) [6]-gingerol- $\beta$ -CD (6,25, 12,5 e 25 mg/kg). # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle (tratado com Tween-80 2% em solução salina 0,9% via oral). \* $P < 0,05$  em relação ao grupo cisplatina. \$ $P < 0,05$  em relação ao grupo tratado com NAC. & $P < 0,05$  em relação ao grupo  $\beta$ -CD. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

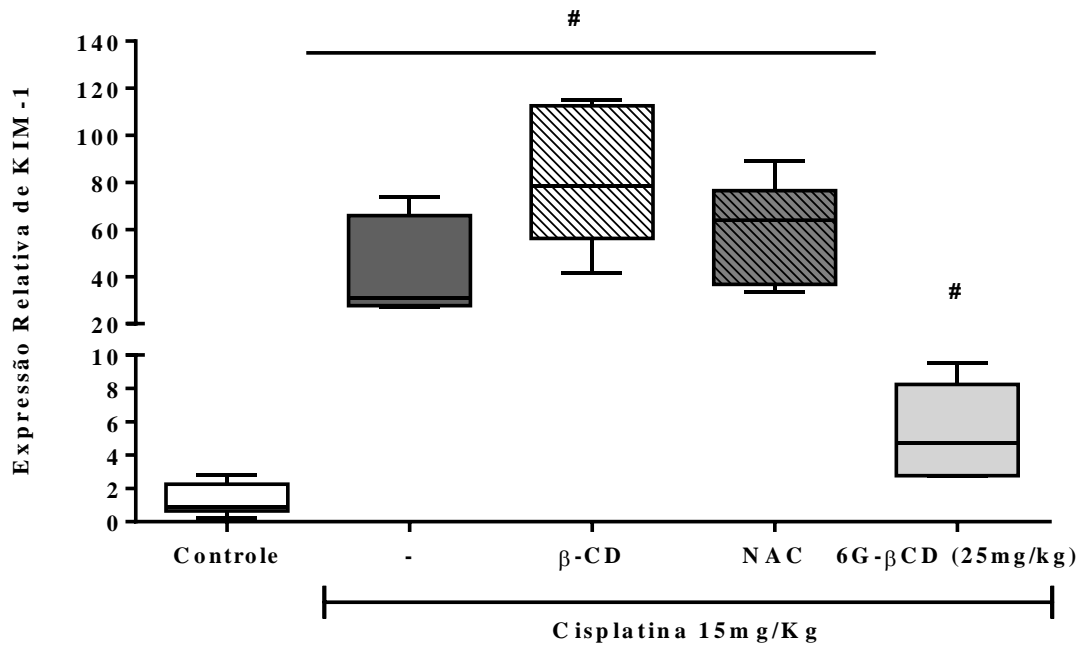
### 5.2.6 Expressão gênica de KIM-1, TIMP-2, CxCL-1, NF- $\kappa$ B, SOD1s, Hemox-1

Após a avaliação dos parâmetros bioquímicos dos grupos tratamentos, foi realizada a análise da expressão gênica de KIM-1, TIMP-2, CxCL-1, NF- $\kappa$ B, SOD1s, Hemox-1. Para a avaliação do [6]-gingerol- $\beta$ -CD foi escolhido apenas o grupo de dose 25 mg/kg. A seguir, serão apresentados os resultados obtidos onde os valores representam a mediana (mín-máx).

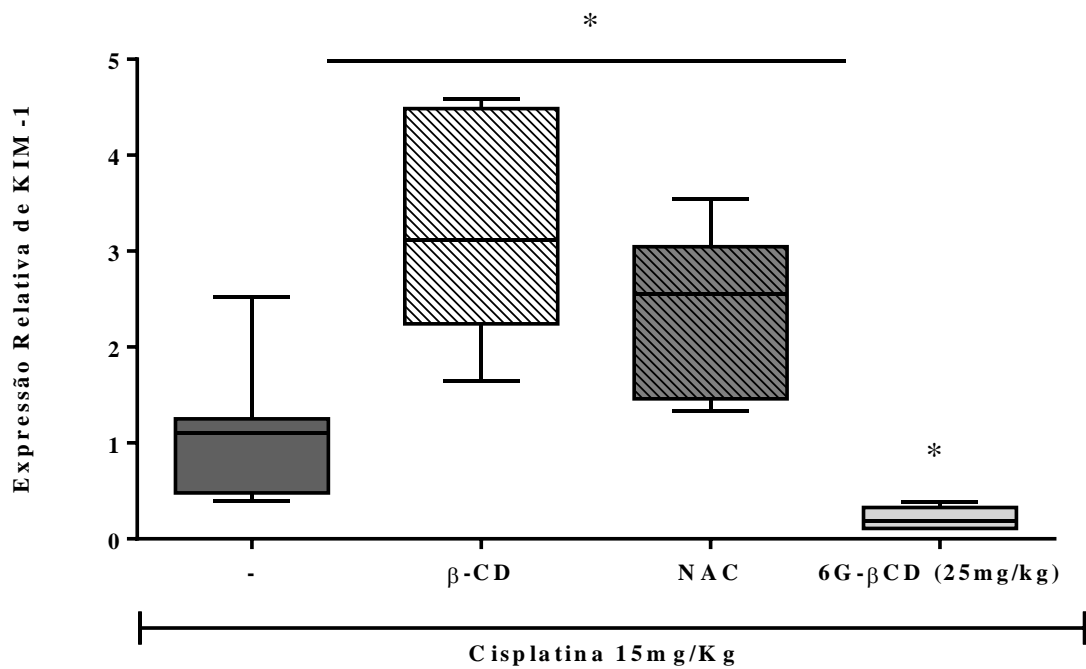
No **Gráfico 12A** é possível observar que houve um aumento significativo da expressão de KIM-1, no grupo IRA induzida por cisplatina 42,36 (26,9 – 73,8), no grupo tratado com NAC 58,10 (33,5 – 88,9) e no grupo tratado com  $\beta$ -CD 81,08 (41,5 – 115,2) em relação ao grupo controle 1,28 (0,25 – 2,82). Enquanto no grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD apresentou aumento de apenas 5,37 vezes em relação ao controle (2,72 – 9,50). Porém no **Gráfico 12B** os animais do grupo NAC apresentaram aumento da expressão em 2,31 (1,33 – 3,54), e o grupo  $\beta$ -CD em 3,22 vezes (1,65 – 4,59) em relação ao grupo tratado apenas com cisplatina. Contudo, os animais que foram tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD obtiveram redução significativa da expressão de KIM-1 em 4,76 vezes, apresentando mediana de 0,21 e mínimo e máxima de 0,11 e 0,38, respectivamente.

**Gráfico 12** – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de KIM-1 na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)

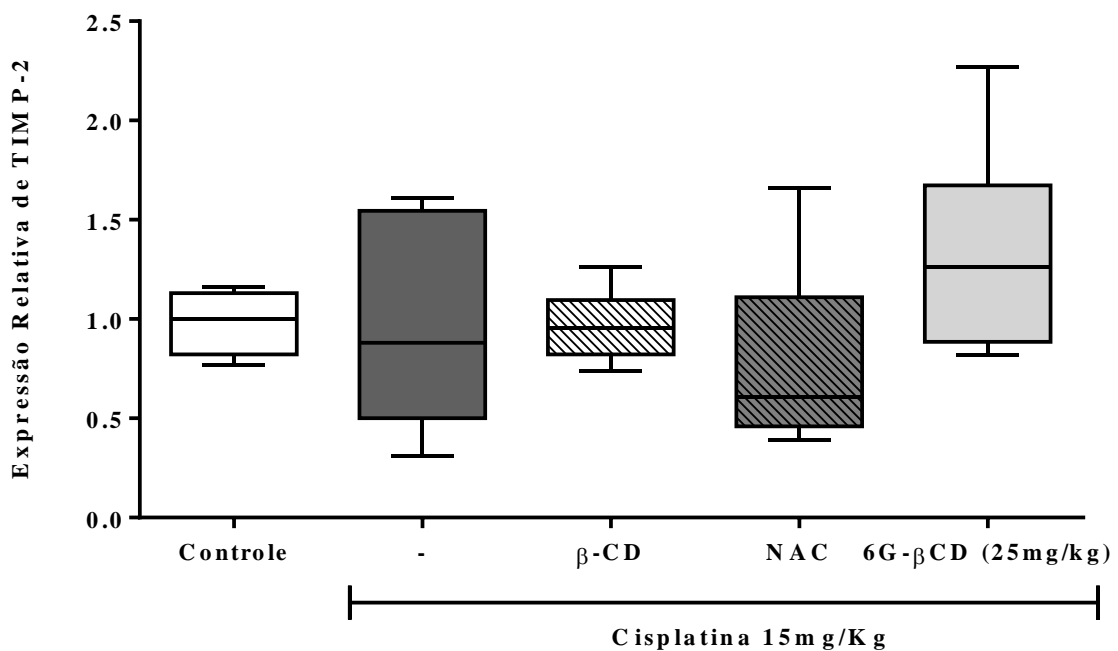


Os valores representam a transcrição gênica de KIM-1 em animais após a indução de IRA por cisplatina tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de KIM-1 em relação ao controle. B) Expressão gênica de KIM-1 em relação ao grupo cisplatina. # $P < 0,05$  em relação ao grupo controle. \* $P < 0,05$  em relação ao grupo tratado apenas com cisplatina. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

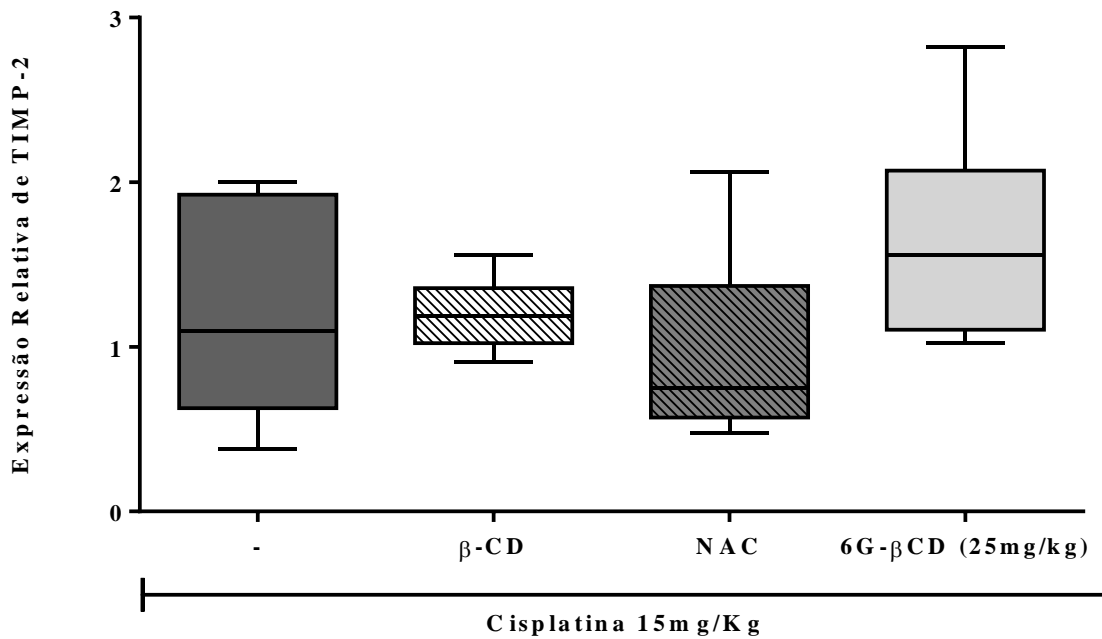
Quanto à expressão gênica de TIMP-2, ao analisar o **Gráfico 13A** é possível observar que não houve diferença significativa do grupo IRA induzida por cisplatina 0,96 (0,31 – 1,61) assim como com os grupos tratados com NAC 0,79 (0,39 – 1,66),  $\beta$ -CD 0,96 (0,74 – 1,26) e [6]-gingerol- $\beta$ -CD 1,32 (0,82 – 2,27), em relação ao grupo controle 0,98 (0,77 – 1,16). Também não houve diferença significativa (**Gráfico 13B**) ao comparar os grupos tratados com NAC 0,98 (0,48 – 2,06),  $\beta$ -CD 1,19 (0,91 – 1,56), [6]-gingerol- $\beta$ -CD 1,64 (1,02 – 2,82) em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina 1,19 (0,38 – 2,0).

**Gráfico 13** – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de TIMP-2 na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)

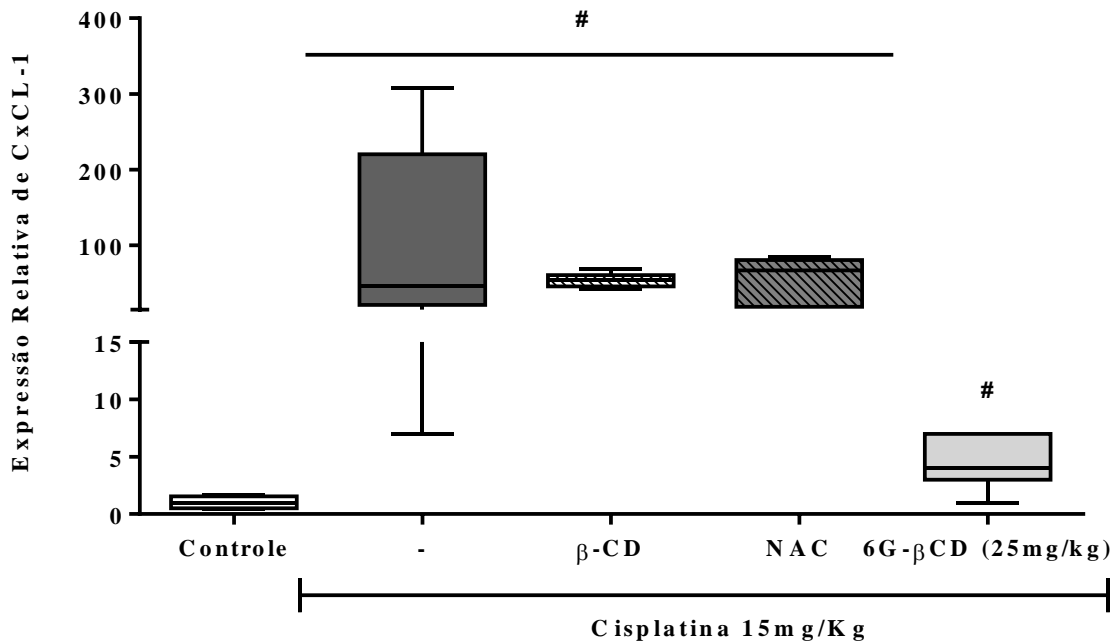


Os valores representam a transcrição gênica de TIMP-2 em animais após a indução de IRA por cisplatina tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de TIMP-2 em relação ao controle. B) Expressão gênica de TIMP-2 em relação ao grupo cisplatina. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

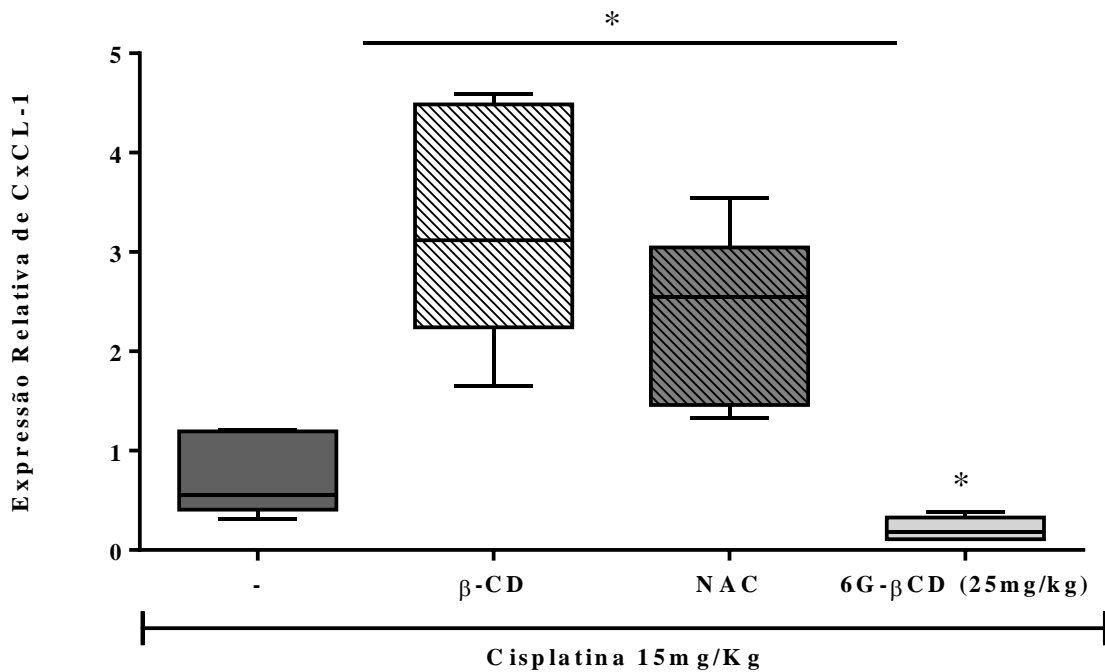
O **Gráfico 14A** mostra que houve um aumento significativo da expressão de CxCL-1, no grupo IRA induzida por cisplatina 102,7 (7,0 – 308,0) e nos grupos tratados com NAC 56,0 (19,0 – 85,0), com  $\beta$ -CD 54,5 (43,0 – 69,0) e [6]-gingerol- $\beta$ -CD 4,42 (1,0 – 7,0) em relação ao grupo controle 1,02 (0,45 – 1,62). Porém no **Gráfico 14B** ocorre uma diminuição da expressão desse gene no grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD 0,21 (0,11 – 0,38), em relação ao grupo IRA 0,71 (0,31 – 1,21), mas o efeito oposto é observado nos grupos tratados com NAC 2,31 (1,33 – 3,54), e com  $\beta$ -CD 3,22 (1,65 – 4,59), demonstrando que apenas o grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD foi capaz de diminuir o efeito inflamatório causado pela cisplatina.

**Gráfico 14** – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de CxCL-1 na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)

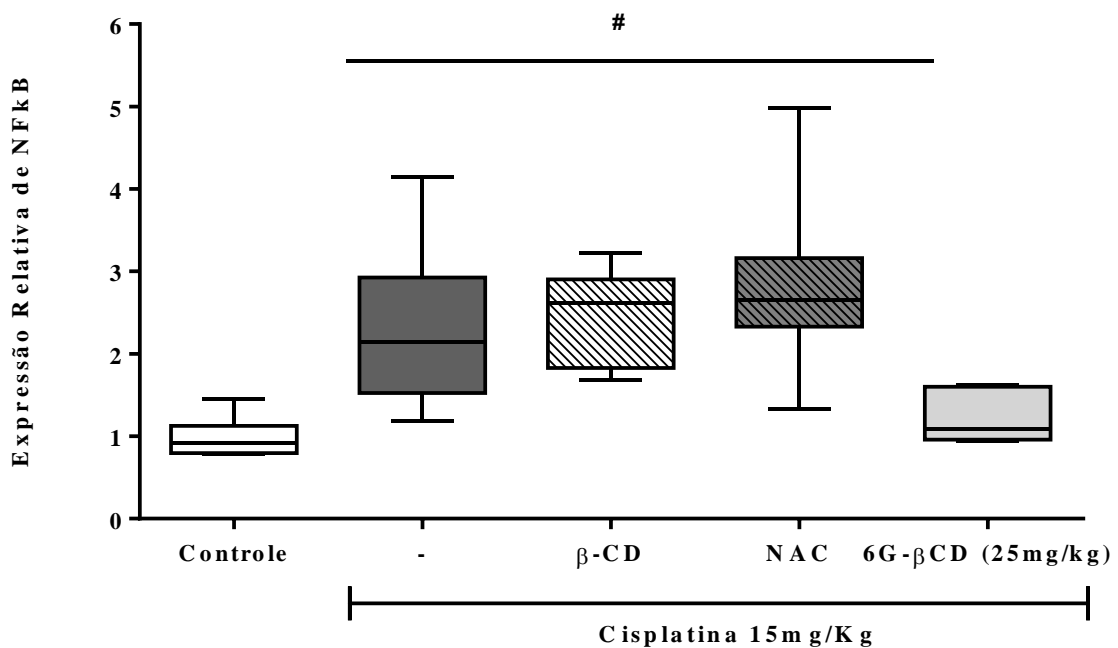


Os valores representam a transcrição gênica de CxCL-1 em animais após a indução de IRA por cisplatina tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de CxCL-1 em relação ao controle. B) Expressão gênica de CxCL-1 em relação ao grupo cisplatina. #P< 0,05 em relação ao grupo controle. \*P<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com cisplatina. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

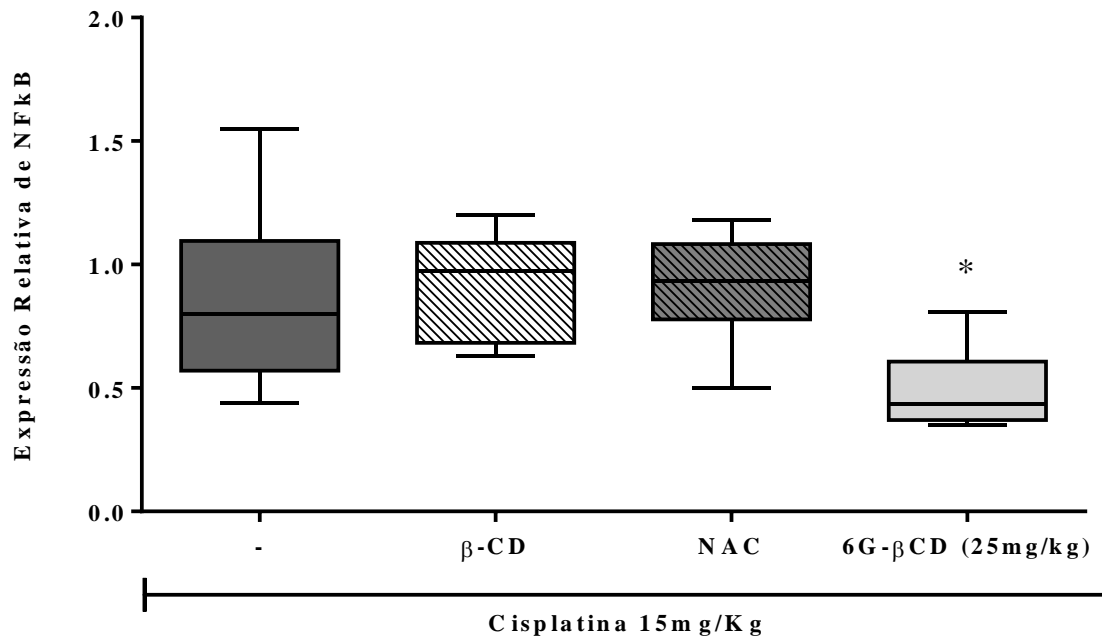
O **Gráfico 15A** mostra que houve um aumento significativo na expressão de NF- $\kappa$ B, nos grupos IRA induzida por cisplatina 2,29 (1,19 – 4,15) e nos grupos tratados com NAC 2,80 (1,33 – 4,98) e  $\beta$ -CD 2,47 (1,68 – 3,22), em relação ao grupo controle 0,98 (0,78 – 1,45). O mesmo não ocorre com o grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD 1,21 (0,94 – 1,62), não apresentando diferença significativa em relação ao controle. Contudo, ao ser comparado com o grupo IRA 0,85 (0,44 – 1,55), o grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD apresenta uma diminuição significativa na expressão de NF- $\kappa$ B 0,50 (0,35 – 0,81). Porém, isso não ocorreu nos grupos tratados com NAC 0,91 (0,50 – 1,18) e  $\beta$ -CD 0,92 (0,63 – 1,20) (**Gráfico 15B**).

**Gráfico 15** – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica de NF- $\kappa$ B na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)



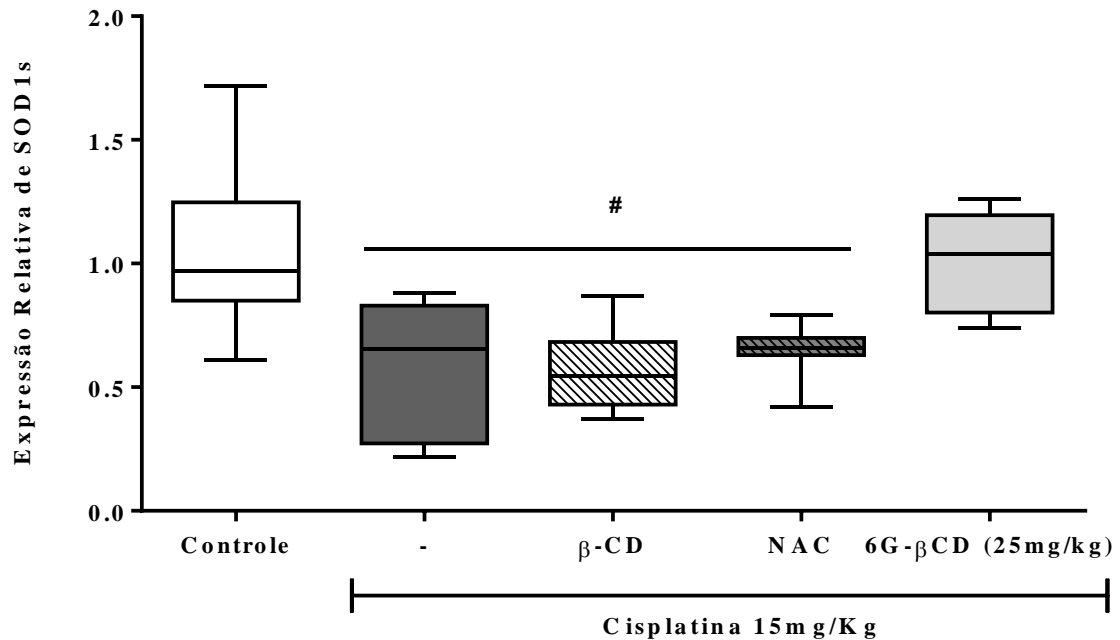
Os valores representam a transcrição gênica de NF-κB em animais após a indução de IRA por cisplatina tratados com [6]-gingerol-β-CD. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de NF-κB em relação ao controle. B) Expressão gênica de NF-κB em relação ao grupo cisplatina. #P< 0,05 em relação ao grupo controle. \*P<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com cisplatina. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

No **Gráfico 16A** é possível observar que houve uma diminuição significativa na expressão gênica de SOD1s no grupo IRA 0,59 (0,22 – 0,88) e nos grupos tratados com NAC 0,64 (0,42 – 0,79) e β-CD 0,56 (0,37 – 0,87) em comparação ao grupo controle 1,04 (0,61 – 1,72). Já o grupo tratado com [6]-gingerol-β-CD 1,01 (0,74 – 1,26) não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Em contrapartida no **Gráfico 16B**, o grupo tratado com [6]-gingerol-β-CD 1,86 (1,35 – 2,32) apresenta um aumento significativo na expressão de SOD1s ao ser comparado com o grupo IRA 1,08 (0,41 – 1,61), o que não ocorre com os grupos tratados com NAC 1,19 (0,77 – 1,46) e β-CD 1,03 (0,68 – 1,60).

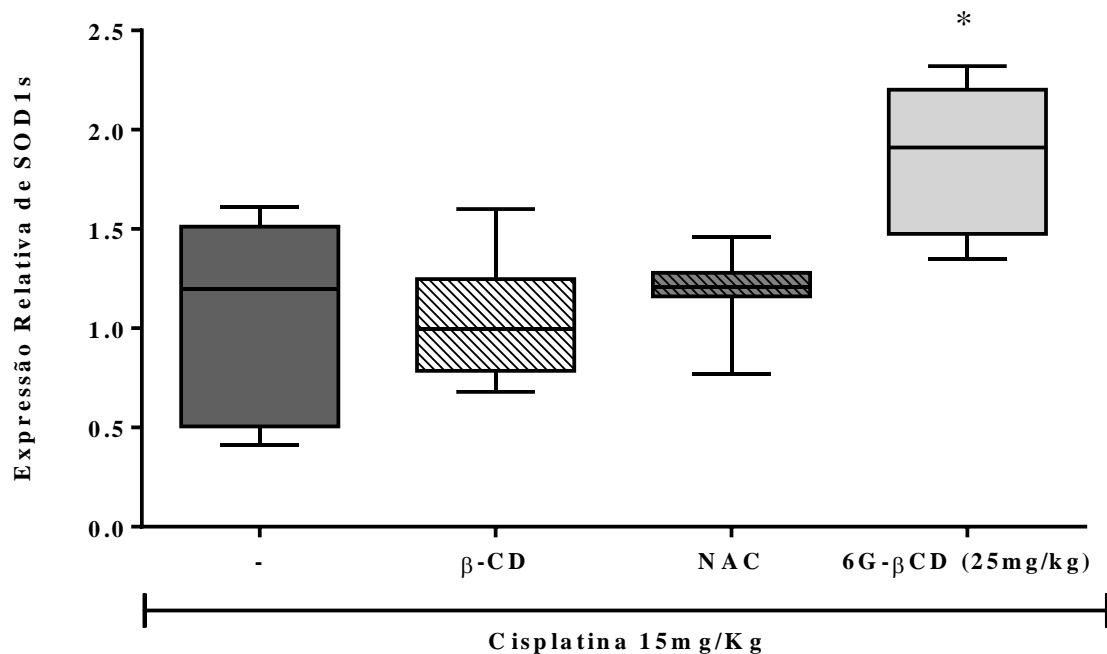


**Gráfico 16** – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica SOD1s na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)

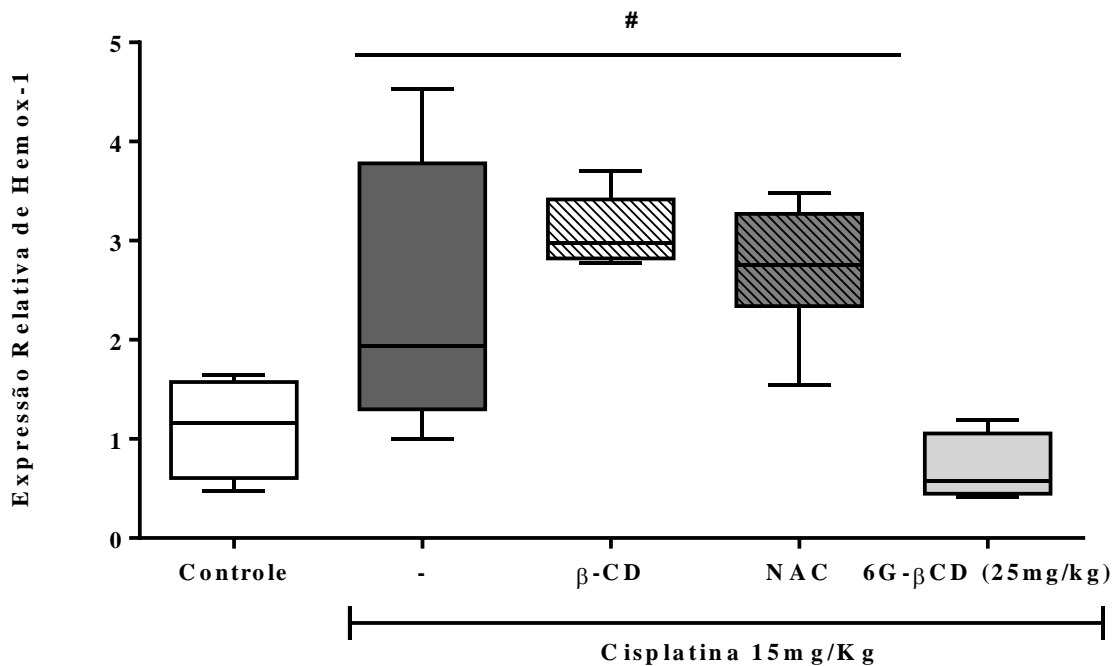


Os valores representam a transcrição gênica de SOD1s em animais após a indução de IRA por cisplatina tratados com [6]-gingerol- $\beta$ -CD. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de SOD1s em relação ao controle. B) Expressão gênica de SOD1s em relação ao grupo cisplatina. #P<0,05 em relação ao grupo controle. \*P<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com cisplatina. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

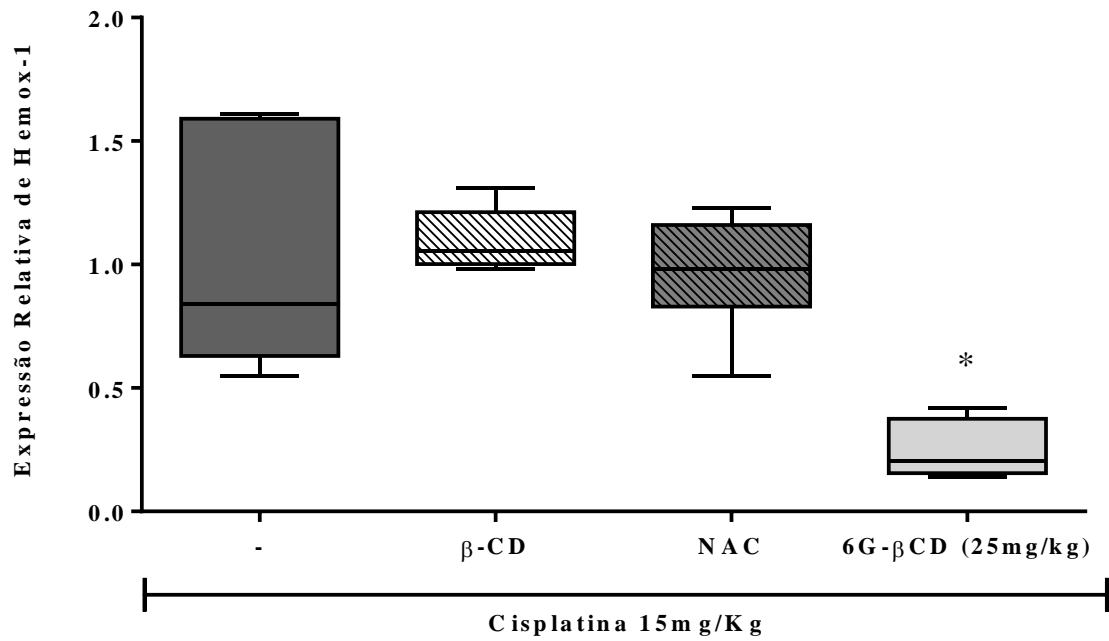
Quanto à expressão gênica de Hemox-1, o **Gráfico 17A** mostra que houve um aumento na expressão desse gene nos grupos IRA 2,42 (1,0 – 4,53) e nos grupos tratados com NAC 2,70 (1,55 – 3,48) e  $\beta$ -CD 3,09 (2,77 – 3,70), em relação ao grupo controle 1,10 (0,48 – 1,65), isso não é observado no grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD 0,70 (0,41 – 1,19), pois não apresenta diferença significativa em comparação ao grupo controle. Comparativamente ao grupo IRA 1,0 (0,55 – 1,61), o grupo tratado com [6]-gingerol- $\beta$ -CD 0,24 (0,14 – 0,42) apresentou uma diminuição na expressão gênica de Hemox-1, isso não ocorreu com os grupos tratados com NAC 0,96 (0,55 – 1,23) e  $\beta$ -CD 1,09 (0,98 – 1,31), que não apresentaram diferença em relação ao grupo IRA (**Gráfico 17B**).

**Gráfico 17** – Efeito do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD e N-acetilcisteína na transcrição gênica Hemox-1 na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)



Os valores representam a transcrição gênica de SOD1s em animais após a indução de IRA por cisplatina tratados com [6]-gingerol-β-CD. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de SOD1s em relação ao controle. B) Expressão gênica de SOD1s em relação ao grupo cisplatina. #P< 0,05 em relação ao grupo controle. \*P<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com cisplatina. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

## 6 DISCUSSÃO

No modelo de IRA induzida por cisplatina seguido no presente estudo foi utilizado apenas uma única dose do antineoplásico para induzir a lesão e a eutanásia ocorrendo após 3 dias, conforme proposto por Kuhad e colaboradores (KUHAD et al., 2006). Visto que, a IRA demora de 3 a 5 dias para se manifestar após a administração de cisplatina (DRIESSEN et al., 2015). Geralmente, modelos de indução de IRA em camundongos utilizam doses mais altas, em torno de 20 – 30 mg/kg (RAMESH & REEVES, 2002; RAMESH & REEVES, 2004; MITAZAKI et al., 2009; MITAZAKI et al., 2013), enquanto que em ratos, as doses utilizadas são mais baixas, por volta de 5 – 10 mg/kg (KUHAD et al., 2006; MORISAKI et al., 2008; KIM et al., 2015). Diante desta ampla diversidade de doses resolvemos neste estudo realizar uma curva dose-resposta, para avaliarmos qual seria a melhor dose de cisplatina para induzir a IRA em camundongos fêmeas.

Trabalhos relatam que o sexo feminino seria mais sensível para o desenvolvimento de IRA induzida por cisplatina (DE JONGH et al., 2003; LATCHA et al., 2016; CHEN et al., 2017; FAIG et al., 2018). Estudos em outros modelos animais apontam os mesmos resultados, evidenciando ainda que drogas com potencial antioxidante conseguem ter um papel nefroprotetor em machos, mas não em fêmeas (ESHKAGHI-JAZI et al., 2011; HAGHIGHI et al., 2012; ESHKAGHI-JAZI et al., 2013; NEMATBAKHSH et al., 2012; EL-ARABEY et al., 2015). Desta forma, para o presente trabalho foram escolhidos camundongos fêmeas, para que pudéssemos analisar se o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD teria ação nefroprotetora na IRA induzida por cisplatina no sexo feminino.

Algumas hipóteses são levantadas com o intuito de elucidar a causa dessa maior sensibilidade pela qual o sexo feminino apresenta com o tratamento com cisplatina. Foi observado em um estudo com células, que a potência da cisplatina pode ser aumentada com tratamento com estrogênio e progesterona. Estes hormônios podem causar superexpressão de proteínas do grupo de alta mobilidade 1 (HMG1), que se ligaram ao duto formado pela cisplatina e à molécula de DNA, impedindo seu reparo, aumentando assim a citotoxicidade da cisplatina (HE et al., 2000).

Em adição, já foi demonstrado que camundongos machos possuem uma taxa de renovação de GSH mais alta que fêmeas da mesma espécie. Esta renovação pode ser diminuída quando os animais são castrados ou recebem tratamento com

estrogênio (HIRAYAMA et al., 1987; MA et al., 1998). Desta forma, pode ser sugerido a hipótese de que ao possuírem uma taxa de renovação de GSH menor, as fêmeas acabam por ser mais sensíveis ao estresse oxidativo causado pela cisplatina do que os machos.

A N-acetilcisteína (NAC) foi utilizada como uma droga nefroprotetora como um controle positivo. Já foi demonstrado em estudos com animais e humanos que a NAC possui efeito nefroprotetor em modelos de IRA induzida por cisplatina (APPENROTH et al., 1993; NISAR et al., 2002; DICKEY et al., 2005; DICKEY et al., 2008; HUANG et al., 2019; GÜNTÜRK et al., 2019).

Para verificar o dano renal causado pela cisplatina, foram analisados alguns parâmetros, como creatinina, ureia, *clearance* de creatinina e proteinúria. O dano tubular foi avaliado através da atividade da enzima gama-GT. A inflamação e o estresse oxidativo, foram avaliados através das atividades da mieloperoxidase (MPO) e glutathiona reduzida (GSH), respectivamente. Porém, para o experimento de curva dose-resposta não foram analisados o *clearance* de creatinina, a proteinúria e a atividade da enzima gama-GT, devido à necessidade de urina para a realização dessas dosagens. Tal amostra biológica não foi coletada nos experimentos de dose-resposta, pois os animais não foram mantidos em gaiolas metabólicas.

A creatinina e ureia foram utilizadas como parâmetros bioquímicos para avaliação da lesão renal, pois a concentração plasmática de ambos pode refletir a taxa de filtração glomerular (TFG), sendo este o parâmetro que, clinicamente, define a função renal. Outra maneira de avaliar a TFG, é o *clearance* de creatinina, pois é livremente filtrada pelos glomérulos, não sendo reabsorvida e pouco secretada (BRITO et al., 2005; EMANUELLI et al., 2008; HIGGINS, 2016). Em modelos animais de IRA induzida por cisplatina, altos níveis de ureia e creatinina são apresentados (RAMESH & REEVES, 2004; NOJIRI et al., 2016; KADIR et al., 2020).

A enzima MPO é encontrada em grânulos azurófilos de neutrófilos e, em menor quantidade, em lisossomas primários de monócitos, sendo responsável pela catalização para a formação de EROs. Durante o estímulo, os grânulos azurófilos são secretados no meio extracelular por degranulação ou exocitose (WEISS, 1989; CHEN et al., 2006; ROMAN et al., 2007; ARATANI, 2018). Diante do exposto, a análise da atividade de MPO é uma medida indireta da inflamação tecidual, pois já foi demonstrado que a cisplatina pode causar a infiltração de neutrófilos no tecido renal de animais (FAUBEL et al., 2007; DENG et al., 2017).

Um importante sistema antioxidante celular tem como centro a glutathiona (GSH). Na sua forma reduzida, é capaz de eliminar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (COUTO et al., 2016; HEGAZY et al., 2016). O processo inicial da nefrotoxicidade causada por cisplatina é a formação de conjugados com a molécula de GSH, que após chegarem ao rim serão clivados em um metabólito nefrotóxico. Além disso, o dano oxidativo causado pela cisplatina pode diminuir sistemas antioxidantes de defesa do organismo, como é o caso da GSH (HANNEMANN et al., 1991; SADZUKA et al., 1992; ANTUNES et al., 2000; KADIKOYLU et al., 2004; VOLAREVIC et al., 2019). Em estudos com animais já foi demonstrado a depleção de GSH causada pela nefrotoxicidade da cisplatina (SANTOS, 2019; HUANG et al., 2017).

Nosso experimento de curva dose-resposta foi avaliado em quatro doses de cisplatina: 10, 12,5, 15 e 17 mg/kg. Apenas as doses de 15 e 17 mg/kg apresentaram diferenças significativas em comparação ao controle quanto aos parâmetros bioquímicos de ureia e creatinina plasmáticas. Para a atividade de MPO, apenas a dose de 10 mg/kg não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Já os níveis de GSH diminuíram significativamente nas doses de 12,5, 15 e 17 mg/kg.

As alterações histopatológicas encontradas no presente estudo estão em conformidade com resultados encontrados em estudos anteriores, apresentando um alto grau de necrose tubular, formação de elencos, dilatação tubular, perda de borda em escova e aumento da infiltração de neutrófilos (KUHAD et al., 2006; DENG et al., 2017; LIU et al., 2020). Em modelos animais a região tubular é a mais atingida, não havendo alterações glomerulares evidentes. Pacientes em tratamento com cisplatina, possuem a necrose tubular aguda como a principal alteração observada na biópsia do tecido renal (ASHRAFI et al., 2013). As doses de 15 e 17 mg/kg tiveram resultados semelhantes quanto aos parâmetros bioquímicos, inflamação, dano oxidativo e alterações histopatológicas. Desta forma, a dose de cisplatina escolhida para induzir a IRA foi a de 15 mg/kg.

Após a escolha da dose de 15 mg/kg como a melhor para induzir IRA por cisplatina, foram realizados os grupos de tratamento utilizando o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD nas doses de 6,25, 12,5 e 25 mg/kg e NAC na dose de 120 mg/kg, com o auxílio das gaiolas metabólicas.

De acordo com Silva e colaboradores (2020), a complexação do [6]-gingerol com a  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) aumentou a sua solubilidade. Mas quando este projeto foi proposto uma das hipóteses a ser testada era se um possível aumento de solubilidade

após esta complexação poderia fazer com que uma dose do [6]-gingerol menor que 50 mg/kg pudesse manter este efeito nefroprotetor. Como já mencionado anteriormente, a dose de 50 mg/kg de [6]-gingerol teve efeito protetor na IRA induzida por cisplatina em ratos (KUHAD et al., 2006). A mesma dose, porém de [8]-gingerol apresentou efeito semelhante na IRA induzida por cisplatina em camundongos (SANTOS, 2019). Além disso a  $\beta$ -CD proporcionaria um mascaramento ao sabor pungente do [6]-gingerol, tornando possível e mais aceitável à administração desse composto por via oral, via esta que não foi utilizada pelo estudo de Kuhad e colaboradores (2006) ou no estudo com [8]-gingerol realizado por nosso grupo (SANTOS, 2019).

Inicialmente, foram avaliadas ureia e creatinina plasmáticas e o *clearance* de creatinina. Com a análise dos resultados foi observado que as doses de 12,5 e 25 mg/kg do complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD, foram capazes de diminuir as concentrações plasmáticas de creatinina e obtiveram uma diferença estatística significativa ao grupo IRA induzida pela cisplatina. Contudo, a dose de 6,25 mg/kg do complexo e a NAC conseguiram diminuir os níveis de creatinina, porém, não obtiveram diferença significativa em relação ao grupo IRA. Os níveis de ureia plasmática dos animais foram reduzidos após os tratamentos com as doses de 12,5 e 25 mg/kg do complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD, apresentando uma diferença significativa quando comparados ao grupo IRA. Porém a dose de 6,25 mg/kg do complexo e a NAC reduziram os níveis de ureia plasmática, mas não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo IRA. Em resumo, as doses de 12,5 e 25 mg/kg demonstraram bons resultados na diminuição dos níveis de ureia e creatinina em relação ao grupo IRA, já a dose de 6,25 mg/kg preveniu de forma leve a lesão aqui apresentada pela cisplatina. Estes dados evidenciam uma boa resposta nefroprotetora do complexo.

Após a avaliação do *clearance* de creatinina foi possível observar que a NAC, na dose empregada por este estudo, não reverteu a queda do *clearance* causada pela administração de cisplatina. Já os tratamentos com as três doses do complexo causaram um discreto aumento neste parâmetro. Estes aumentos não refletiram em uma real ação nefroprotetora, haja visto que não foram estatisticamente significativas em relação ao grupo IRA. Contudo, os valores obtidos por estes três grupos de tratamento também não obtiveram diferença significativa quando comparado ao grupo controle, tanto para a NAC, quanto para a dose de 6,25 de [6]-gingerol- $\beta$ -CD. A partir desse dado, é possível observar que a maior solubilidade do [6]-gingerol

proporcionada pela complexação com a  $\beta$ -CD concedeu um discreto efeito terapêutico a esse composto, em uma dose mais baixa.

Outros estudos utilizando o [6]-gingerol como proteção frente à nefrotoxicidade induzida por cisplatina demonstraram que este composto teve a capacidade de diminuir os valores de ureia e creatinina plasmáticas e elevar o valor do *clearance* de creatinina (KUHAD et al., 2006; HEGAZY et al., 2016; RODRIGUES et al., 2018). Contudo, vale salientar que nosso estudo empregou doses menores de um composto em complexação, empregamos a via oral e testamos no sexo feminino. Desta forma, os dados observados com o parâmetro de ureia plasmática nos indicam que a substância testada pode proteger o efeito lesivo causado pela cisplatina. E esta constatação é reforçada pelos dados a seguir.

A gama-glutamil transferase (Gama-GT) é uma enzima presente em tecidos como ducto biliar, vesícula biliar, coração, cérebro, rim e outros tecidos. No rim ela está presente na borda em escova, principalmente do túbulo proximal. Porém, devido ao seu alto peso molecular a Gama-GT não consegue atravessar a barreira glomerular (GOLDBERG, 1980; LIPPI et al., 2018). O aumento da excreção dessa enzima indica dano tubular com lesão na membrana da borda em escova e perda da estrutura das microvilosidades (CRIVELLENTI et al., 2014). A Gama-GT pode ser utilizada como um marcador precoce de injúria renal, pois ocorre juntamente com pequenas alterações nas células, antes de mudanças na arquitetura renal e azotemia, além de ser um importante marcador de lesão tubular na IRA induzida por cisplatina (GUIMARÃES, 2000; ARANY & SAFIRSTEIN, 2003; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011). Alguns trabalhos utilizam esta enzima como marcador, demonstrando seu aumento na urina de animais experimentais (GORDON et al., 1986; MISHRA et al., 2013; KPEMISSI et al., 2019; AZOUZ et al., 2020) e pacientes em tratamento com cisplatina (HU et al., 1997).

Em nosso estudo, a partir da análise da atividade de Gama-GT foi possível observar que o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD, nas doses de 12,5 e 25 mg/kg, foi capaz de reverter o dano tubular causado pela cisplatina, o mesmo não foi observado na dose de 6,25 mg/kg, porém essa dose também não apresentou diferença significativa para o grupo controle, evidenciado uma discreta melhora contra o dano tubular. Na literatura não são encontrados trabalhos que relacionem o papel nefroprotetor do 6- gingerol à atividade da Gama-GT urinária. Em adição, a administração de NAC não foi capaz de diminuir os valores da Gama-GT urinária. Na literatura é possível



encontrar estudos onde NAC conseguiu diminuir os valores dessa enzima. Em modelo de nefrotoxicidade induzida por gentamicina em ratos machos, a NAC foi administrada por via oral, na dose de 40 mg/kg. Em outro modelo de nefrotoxicidade, também utilizando ratos machos, a NAC foi administrada por via oral, na dose de 100 mg/kg (EL-FATTAH & EL-SHEIKH, 2012; ANSARI et al., 2019).

Algumas proteínas de baixo e médio peso molecular conseguem atravessar a barreira glomerular, porém são quase totalmente reabsorvidas. Contudo, há proteinúria quando se tem um dano glomerular ou na maquinaria de reabsorção do túbulo proximal, ocorrendo a presença de proteína na urina em níveis não fisiológicos (EATON & POLLER, 2006; NIELSEN & CHRISTENSEN, 2010; GORRIZ & MARTINEZ-CASTELAO, 2012). Portanto, a proteinúria causada pela nefrotoxicidade induzida pela cisplatina pode ser devido à necrose tubular, visto que a lesão glomerular é menos frequente durante o tratamento com esse antineoplásico (DAUGAARD et al., 1988; CHIRINO et al., 2004; EATON e POLLER, 2006; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011; DUGBARTEY et al., 2016). Estudos com modelos de IRA induzida por cisplatina conseguem reproduzir esse quadro de proteinúria (ABDELRAHMAN, 2017; ZHAO & DAI, 2020; JING et al., 2020).

Foi demonstrado que uma fração enriquecida com [6], [8] e [10]-gingerol, aplicada por via oral nas doses de 12,5 e 25 mg/Kg, diminuiu a excreção de proteínas na urina de ratos machos, em um modelo de IRA induzida por gentamicina (RODRIGUES et al., 2014). Em outro estudo, utilizando um modelo de IRA induzida por sepse em ratos machos, foi observado que o [6]-gingerol foi capaz de diminuir a proteinúria quando aplicado intraperitonealmente na dose de 25mg/Kg (RODRIGUES et al., 2018). No presente estudo, o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD administrado por via oral nas doses de 12,5 e 25 mg/kg, também conseguiu reverter os altos níveis de proteinúria causados pela IRA induzida por cisplatina. Em contrapartida, a dose de 6,25 mg/kg não obteve o mesmo efeito. Na literatura é possível observar que a NAC, utilizada como agente nefroprotetor, conseguiu diminuir os níveis de proteína urinária. Em modelo de IRA induzida por cisplatina em ratos machos, a NAC foi administrada i.p. na dose de 50 mg/kg. Em outro modelo de nefrotoxicidade induzida por cisplatina em ratos fêmeas, a NAC foi administrada via s.c. na dose de 100 mg/kg. A NAC também foi administrada via i.p. na dose de 50 mg/kg, em um modelo de IRA induzida por gentamicina em ratos machos (APPENROTH et al., 1993; ABDEL-WAHAB et al., 2017; SANCHO-MARTÍNEZ et al., 2018). No presente estudo a NAC na dose de

120mg/Kg por via oral não foi capaz de diminuir os valores de proteinúria.

A molécula de injúria renal 1 (KIM-1), é expressa nos túbulos proximais apenas quando há injúria, sendo considerado, portanto, um ótimo biomarcador (TIMMEREN et al., 2007). Por se alterar muito antes dos parâmetros bioquímicos clássicos, é considerada um marcador precoce, diferentemente da creatinina, por exemplo, que se eleva após 50% do comprometimento da função renal (HAN et al., 2002; BONVENTRE, 2008). No rim lesionado, KIM-1 torna as células tubulares em uma espécie de fagócito ao exercer a função de internalizar células apoptóticas e detritos de células necróticas (ICHIMURA et al., 2012). Na literatura, já foi bem relatado que a expressão de KIM-1 é elevada com o tratamento com cisplatina (WU et al., 2011; VINKEN et al., 2012; SINHA et al., 2013; AHMAD et al., 2019).

Em modelo de IRA induzida por sepse em ratos machos, o [6]- e [10]-gingerol na dose de 25 mg/kg i.p. diminuíram a expressão de KIM-1 (RODRIGUES et al., 2018). Na presente pesquisa, o complexo em estudo na dose de 25 mg/kg, conseguiu diminuir a expressão de KIM-1, em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina. Em pacientes tratados com anfotericina B, a NAC reduziu a expressão de KIM-1 (KARIMZADEH et al., 2015). Porém, neste estudo a NAC na dose de 120 mg/Kg por via oral não reverteu a expressão gênica de KIM-1.

O inibidor de tecido de metaloproteinases (TIMP-2) é uma proteína pertencente a família de genes TIMP. As proteínas codificadas por essa família de genes são inibidores naturais das metaloproteinases da matriz (MMP), um grupo de peptidases envolvidas na degradação da matriz extracelular, sendo o TIMP-2 capaz de inibir o MMP-2 com mais eficácia do que outros TIMPs. Essas proteínas são capazes de suprimir de maneira direta a proliferação de células endoteliais e, desta forma, diminuem a formação de tecidos inativos em resposta à fatores angiogênicos e inibindo a atividade da protease em tecidos submetidos à remodelação da matriz extracelular (BOURBOULIA & STETLER-STEVENSON, 2010). Estudos sugerem o uso do TIMP-2 como um biomarcador para a IRA induzida por cisplatina (SCHANZ et al., 2017). Já foi observado que o extrato aquoso do gengibre diminuiu a expressão de TIMP-2 em um modelo *in vitro* de infecção pelo vírus da dengue (SHARMA et al., 2015). No presente estudo, a expressão do gene TIMP-2 não foi alterada em relação ao controle em nenhum dos grupos testados.

Foi possível observar no presente estudo que o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg conseguiu reverter, significativamente, o efeito inflamatório

promovido pela cisplatina pela detecção indireta da redução na atividade de MPO, mas o mesmo não foi observado na dose de 12,5 mg/kg. Porém, a dose de 12,5 mg/kg não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Em um modelo de mastite induzido por ácido lipoteicoico (LTA), o [6]-gingerol nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg via i.p., conseguiu diminuir a atividade de MPO e o infiltrado de neutrófilo, em camundongos de ambos os sexos (ZAHOOR et al., 2020). Esse composto, nas doses de 50 e 100 mg/kg por via oral, foi capaz de reduzir os níveis de MPO no cérebro, ovário e útero de ratos fêmeas, em um modelo de inflamação induzida pelo organofosforado clorpifirós (ABOLAJI et al., 2017). Da mesma forma, o [6]-gingerol administrado por via oral na dose de 25 mg/kg teve o mesmo efeito na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida, em camundongos fêmeas (FERREIRA, 2017). Na colite ulcerativa induzida por sulfato de sódio dextrana, em camundongos machos, o [6]-gingerol administrado via oral, na dose de 100 mg/kg, também foi capaz de diminuir a atividade de MPO (AJAYI et al., 2018). O uso de NAC para reduzir a atividade de MPO já foi reportado na literatura. Na nefrotoxicidade induzida por acetaminofeno em camundongos de ambos os sexos, a NAC foi administrada na dose de 400 mg/kg via i.p.. No dano renal causado por isquemia-reperfusão, a NAC foi administrada via i.p. na dose de 150 mg/kg (TAS et al., 2019; ALTUN et al., 2020). No presente estudo, NAC não conseguiu reduzir a atividade de MPO significativamente, porém não apresentou diferença significativa em relação ao controle.

A inflamação causada pela nefrotoxicidade induzida pela cisplatina leva à ativação da via do NF- $\kappa$ B, fator que promove a transcrição de muitas citocinas e quimiocinas, incluindo a expressão do TNF- $\alpha$  (MILLER et al., 2010; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011b; PERES & CUNHA, 2013), uma citocina pró-inflamatória que desempenha um importante papel na regulação da resposta inflamatória à cisplatina (QI et al., 2019). Já foi observado que o [6]-gingerol 25 mg/kg conseguiu diminuir a produção de NF- $\kappa$ B, em um modelo de fibrose hepática em ratos machos (ALGANDABY et al., 2016). Em outro estudo foi demonstrado que o zingerone, nas doses de 25 e 50 mg/kg, por via oral, conseguiram reduzir os níveis de NF- $\kappa$ B, na nefrotoxicidade induzida por cisplatina em ratas fêmeas (KANDEMIR et al., 2019). No presente estudo, foi observado que o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg foi capaz de diminuir a expressão de NF- $\kappa$ B na IRA induzida por cisplatina. Em um modelo de inflamação generalizada induzida por zymosan em camundongos machos, a NAC a 100 mg/kg por via subcutânea, foi capaz de diminuir os níveis de

NF- $\kappa$ B nos pulmões dos animais (WANG et al., 2013). No presente estudo a NAC não conseguiu diminuir a expressão de NF- $\kappa$ B, em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina.

A CxCL-1 é uma quimiocina que desempenha um papel crucial no recrutamento de neutrófilos para o tecido lesionado (RAVINDRAN et al., 2013). Pertence à família CXC, que são produzidas por células epiteliais dos túbulos renais, tendo um papel importante na inflamação intersticial (HUANG et al., 2006). É formada por monócitos, fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais (SIGAL, 2004; FRANGOIANNIS, 2007). Alguns estudos sugerem que essa quimiocina é um marcador inicial na IRA por isquemia (MOLLS et al., 2006; ACKAY et al., 2009). Já foi observado que na IRA induzida por cisplatina a CxCL-1 tem seus níveis elevados (LIU et al., 2006; ZHANG et al., 2008; ACKAY et al., 2011). Em um experimento in vitro foi demonstrado que a fração etanólica do gengibre foi capaz de diminuir a expressão de CxCL-1, em um modelo de infecção viral (HABEBALLA et al., 2020). A presente pesquisa demonstrou que o [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg diminuiu a expressão gênica de CxCL-1 nos rins dos camundongos fêmeas, em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina. Em um modelo de IRA induzida por cisplatina em camundongos machos, a NAC 50mg/kg i.p., diminuiu a expressão de CxCL-1 nos rins dos animais (HUANG et al., 2019). Na presente pesquisa, a NAC não apresentou o mesmo efeito, não diminuindo os níveis de CxCL-1.

No presente estudo, o [6]-gingerol complexado com a  $\beta$ -CD, nas doses de 6,25, 12,5 e 25 mg/kg foi capaz de elevar os níveis de GSH na injúria renal aguda induzida pela cisplatina, corroborando com seu efeito antioxidante já demonstrado na literatura (YANG et al., 2011; WANG et al., 2014). Em um modelo de toxicidade por alumínio em ratos, o [6]-gingerol administrado via oral nas doses nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, conseguiu aumentar os níveis de GSH, no fígado, rim e cérebro de ratos fêmeas (SHRIVASTAVA, 2015). Foi observado que o extrato do gengibre na dose de 500 mg/kg administrado por via oral elevou os níveis de GSH frente à nefrotoxicidade induzida por aspartame em ratos machos (HOZAYEN & ABOUSEIF, 2015). No modelo de IRA induzida por cisplatina em ratos machos e fêmeas, já anteriormente mencionado, o [6]-gingerol na dose de 25 mg/kg i.p. aumentou as concentrações de GSH (KUHAD et al., 2006). O [6]-gingerol na dose de 25 mg/kg via i.p. foi capaz de aumentar as concentrações de GSH, em um modelo de nefrotoxicidade induzida por sepe em ratos machos (RODRIGUES et al., 2018). Em outro modelo de

nefrotoxicidade, induzida por gentamicina em ratos machos, uma fração enriquecida com [6], [8] e [10]-gingerol nas doses de 12,5 e 25 mg/kg administrado por via oral obteve o mesmo efeito antioxidante já mencionado, elevando os níveis de GSH (RODRIGUES et al., 2014). Em dois estudos utilizando modelo de nefrotoxicidade induzida por cisplatina em ratos machos, a NAC foi administrada nas doses de 50 e 250 mg/kg, respectivamente, elevando os níveis de GSH (LUO et al., 2008; ABDEL-WAHAB et al., 2017). No presente estudo a NAC não obteve sucesso com o aumento dos níveis de GSH, que permaneceram reduzidos.

A heme oxigenase é uma enzima que degrada grupos heme, tendo como resultado a biliverdina e liberando monóxido de carbono e ferro no processo, consideradas moléculas protetoras, o grupo heme livre é considerado tóxico (COURTNEY & MAXWELL, 2008; ABRAHAM et al., 2009). Sua isoforma heme oxigenase 1 (Hemox-1) é induzida por várias condições de estresse, dentre elas, estresse oxidativo, e é utilizada pela célula para neutralizá-las (RYTER et al., 2006). Foi observado que essa enzima concede um efeito protetor à função renal em modelos animais de rabiomíolise, nefrotoxicidade induzida por cisplatina e nefrite nefrotóxica (NATH, 2006; CHO et al., 2020). Em um modelo de sepse, o [6]-gingerol, na dose 40 mg/kg administrado por via oral demonstrou ser capaz de elevar os níveis de Hemox-1 no fígado de camundongos machos (HONG et al., 2020). Na IRA induzida por isquemia, o 6-shogaol a 20 mg/kg por via i.p., foi capaz de induzir a expressão dessa enzima nos rins de camundongos machos (HAN et al., 2019). No presente estudo, o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD na dose de 25 mg/kg elevou os níveis de Hemox-1 em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina. Em um modelo de injúria hepática em ratos machos, a NAC na dose de 200 mg/kg i.p., apresentou efeito protetor ativando a vida da Hemox-1 (CAI et al., 2015). Na IRA induzida por isquemia em ratos machos, a NAC 150 mg/kg i.p. conseguiu induzir a expressão de Hemox-1 (ZHANG et al., 2014). No presente estudo a NAC não elevou os níveis de Hemox-1 em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina.

As superóxidos dismutases são proteínas intermembranares do citoplasma e mitocôndria que agem convertendo radicais superóxido de origem natural, contudo prejudiciais, em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, sendo a SOD1 a variante citosólica. A SOD1 é importante por seu efeito antioxidante, tendo capacidade de reduzir os danos causados por EROs (YAMANOBÉ et al., 2007; MASLOV et al., 2015). O tratamento com cisplatina pode diminuir os níveis de SOD1. Já foi relatado

que o [6]-gingerol, na dose de 50 mg/kg i.p., conseguiu elevar os níveis de SOD1, no modelo de IRA induzida por cisplatina em ratos machos e fêmeas (KUHAD et al., 2006). Nosso estudo demonstrou que a dose de 25 mg/kg do complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD elevou os níveis de SOD1 em relação ao grupo IRA induzida por cisplatina. Na IRA induzida por cisplatina a NAC também demonstrou elevar os níveis de SOD1 (HUANG et al., 2019). O mesmo não ocorreu no presente estudo.

Muitos trabalhos que utilizam o [6]-gingerol como agente terapêutico, fazem sua administração por via intraperitoneal (KUHAD et al., 2006; HEGAZY et al., 2016; RODRIGUES et al., 2018; ZAHOOR et al., 2020), muito provavelmente devido à sua baixa solubilidade em meio aquoso (JIANG et al., 2008; YAGIHASHI et al., 2008; WANG et al., 2018). Desta forma, a administração intraperitoneal concede uma maior absorção, pois alcança mais rapidamente a circulação (SANTOS et al., 2013). Porém, a via oral é de mais fácil emprego, menos invasiva e mais segura para administração de drogas (CHAVES et al., 2018; FREITAS et al., 2020). Assim, a via oral foi a escolhida como via de administração oral para o [6]-gingerol- $\beta$ -CD no presente estudo. Como já mencionado anteriormente, a complexação do [6]-gingerol com a  $\beta$ -ciclodextrina aumentou sua solubilidade em meio aquoso (SILVA et al., 2020). A partir disso esperava-se ser possível diminuir a dose de 50 mg/kg de [6]-gingerol, já descrita na literatura por ter um efeito nefroprotetor frente a IRA induzida por cisplatina (KUHAD et al., 2006). No presente estudo foram avaliadas três doses do complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD 6,25, 12,5 e 25 mg/kg, com base nos resultados obtidos, foi possível observar que as doses de 12,5 e 25 mg/kg apresentaram efeito nefroprotetor semelhante para a maioria dos parâmetros bioquímicos analisados. Porém, a dose de 6,25 mg/kg não apresentou diferença estatística em relação ao grupo IRA ou ao grupo controle para a maioria dos parâmetros bioquímicos analisados, indicando que mesmo com uma dose mais baixa o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD preveniu uma lesão mais acentuada. Por apresentar um efeito terapêutico ligeiramente melhor, a dose de 25 mg/kg foi escolhida para as análises de expressão gênica, apresentando uma melhora nos níveis da maioria dos genes analisados.

Sabe-se que a injúria renal aguda causada pela cisplatina está relacionada a um dano no túbulo proximal, estresse oxidativo e inflamação (MANOHAR & LEUNG, 2018). Essa nefrotoxicidade pode ativar a via do NF- $\kappa$ B, uma importante via para a ativação de citocinas e quimiocinas, incluindo TNF- $\alpha$  e CxCL-1 (MILLER et al., 2010; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011b; PERES & CUNHA, 2013; BURKE et al., 2014).

A CxCL-1 é uma quimiocina que ativa a infiltração de neutrófilos até o tecido lesionado (BURKE et al., 2014). O TNF- $\alpha$  pode levar ao dano tecidual, apoptose das células renais e até mesmo ativar citocinas pró-inflamatórias, exercendo assim um papel importante na inflamação causada pela cisplatina (RAMESH & REEVES, 2003; ZHANG et al., 2007; QI et al., 2019). No presente trabalho, o complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD reduziu a expressão de NF- $\kappa$ B, CxCL-1 e o infiltrado de neutrófilos (analisado pela atividade de MPO). Sendo assim, podemos supor que o composto também foi capaz de reduzir a expressão de TNF- $\alpha$ . Portanto, o [6]-gingerol complexado à  $\beta$ -CD apresentou um bom efeito anti-inflamatório, frente à IRA induzida por cisplatina.

O [6]-gingerol- $\beta$ -CD também apresentou efeito antioxidante na nefrotoxicidade induzida por cisplatina. Em relação ao grupo IRA o complexo apresentou um aumento nos níveis de GSH e na expressão de SOD1, assim como uma diminuição na expressão de Hemox-1, devolvendo os valores para um patamar ao nível do grupo controle. A GSH, SOD1 e Hemox-1 fazem parte de importantes sistemas antioxidantes celulares (RYTER et al., 2006; MASLOV et al., 2015; COUTO et al., 2016; HEGAZY et al., 2016). Esses antioxidantes fazem parte da via do fator nuclear eritroide 2 (Nrf2), um grande regulador da resposta antioxidante (DREGGER et al., 2009; ZOJA et al., 2014; LIN et al., 2016). O Nrf2 protege a célula de substâncias endógenas, EROs, radiação e toxinas (HUANG et al., 2015). Isso corrobora com alguns estudos que correlacionam a atividade antioxidante do [6]-gingerol à ativação da via do Nrf2 (LEE et al., 2011; SAMPATH et al., 2017; HONG et al., 2020).

A metodologia de posologia do complexo [6]-gingerol- $\beta$ -CD utilizada no presente estudo foi a mesma seguida por Kuhad e colaboradores (KUHAD et al., 2006), que consistia em um pré e pós-tratamento. Ou seja, antes de ocorrer a lesão renal ocasionada pela cisplatina, o paciente já estaria recebendo doses de [6]-gingerol- $\beta$ -CD. Como mencionado anteriormente, a hemox-1 tem sua produção iniciada no organismo por diversas condições de estresse, em contrapartida à GSH e SOD1, têm sua produção diminuída em situações de estresse ao tecido, como pôde ser observado no grupo IRA induzida pela cisplatina. Nos grupos tratados com o complexo foi possível observar que os níveis de GSH, SOD1 e hemox-1 permaneceram em um patamar a nível do grupo controle. Dessa forma, pode-se inferir que a via do Nrf2 já estaria ativada, antes mesmo que a injúria renal fosse estabelecida, evitando que o tecido renal sofresse estresse oxidativo.

Além de demonstrar efeitos anti-inflamatório e antioxidante, o [6]-gingerol- $\beta$ -CD

também diminuiu os níveis de creatinina, ureia, gama-GT, proteína urinária, assim como a expressão de KIM-1, todos marcadores de lesão renal.

Como já mencionado anteriormente a NAC foi aqui utilizada como um agente nefroprotetor como um controle positivo. É relatado em diversos estudos que esta droga possui um efeito nefroprotetor frente à IRA induzida por cisplatina (APPENROTH et al., 1993; NISAR et al., 2002; DICKEY et al., 2005; DICKEY et al., 2008; HUANG et al., 2019; GÜNTÜRK et al., 2019), sendo um bom antioxidante (ONDANI et al., 2011; SANCHO-MARTÍNEZ et al., 2018). Porém, no presente estudo a NAC não apresentou uma proteção frente à IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas. Podemos inferir que a dose de 120 mg/kg utilizada não forneceu uma biodisponibilidade suficiente para que a NAC apresentasse seu efeito antioxidante. Não foi encontrado na literatura trabalhos que correlacionassem o efeito antioxidante de NAC ao sexo feminino. Porém, existem estudos demonstrando que alguns antioxidantes não possuem papel nefroprotetor na presença de estrogênio (NEMATBAKSHI et al., 2012; PEZESHKI et al., 2012).

**Tabela 5** – Resumo dos resultados obtidos.

	<b>Cisplatina</b>	<b>NAC</b>	<b>6,25 mg/kg</b>	<b>12,5 mg/kg</b>	<b>25 mg/kg</b>
<b>Creatinina</b>	↑	–	–	↓	↓
<b>Ureia</b>	↑	–	–	↓	↓
<b>Clearance</b>	↓	–	–	–	–
<b>Gama GT</b>	↑	–	–	↓	↓
<b>Proteinúria</b>	↑	–	↑	↓	↓
<b>MPO</b>	↑	–	↑	–	↓
<b>GSH</b>	↓	–	↑	↑	↑
<b>KIM-1</b>	↑	–	*	*	↓
<b>TIMP-2</b>	–	–	*	*	–
<b>CxCL-1</b>	↑	–	*	*	↓
<b>NF-κB</b>	↑	–	*	*	↓
<b>SOD1</b>	↓	–	*	*	↑
<b>Hemox-1</b>	↑	–	*	*	↓

Fonte: Elaborado pelo autor. ↑: aumento significativo; ↓: diminuição significativa; –: ausência de diferença estatística em relação ao grupo controle ou ao grupo cisplatina; \*: não foi analisado.



## 7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que foi estabelecido com sucesso um modelo de injúria renal aguda induzida por cisplatina em camundongos fêmeas.

Ao complexar o [6]-gingerol à  $\beta$ -CD foi possível identificar que doses menores que 50 mg/kg (25 e 12,5 mg/kg) preservaram efeito terapêutico frente à IRA induzida pela cisplatina mostrando que uma melhor solubilidade e, conseqüentemente, uma melhor biodisponibilidade intensificaram os efeitos do [6]-gingerol. Na **Figura 9** propomos um mecanismo de ação do [6]-gingerol- $\beta$ -CD frente à IRA induzida por cisplatina.

A NAC na dose de 120 mg/kg por via oral não teve efeito nefroprotetor na IRA induzida por cisplatina em camundongos fêmeas, isso pode ter sido causado ou pela dose utilizada, por termos usado fêmeas ou por ambos.

**Figura 9** – Mecanismo de ação do [6]-gingerol- $\beta$ -CD.

### A) Lesão Renal



### B) Resposta anti-inflamatória



### C) Resposta antioxidante



Fonte: Elaborado pelo autor. A) A IRA induzida por cisplatina aumentou a expressão de KIM-1, que foi diminuída com o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD; B) O tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD apresentou uma resposta anti-inflamatória demonstrada pela diminuição da expressão gênica de NF- $\kappa$ B e CxCL-1 e, conseqüentemente, uma diminuição do infiltrado de neutrófilos (analisado indiretamente pela atividade de MPO); C) A resposta antioxidante do tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD se deu através do aumento dos níveis de GSH, aumento da expressão gênica de SOD1 e diminuição da expressão gênica de Hemox-1. Esses resultados indicam que o tratamento com [6]-gingerol- $\beta$ -CD apresentou uma resposta antioxidante através da ativação da via do Nrf2.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-WAHAB, W. M., MOUSSA F., SAADN. A. Synergistic protective effect of N-acetylcysteine and taurine against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 11, p. 901 – 908, 2017.
- ABDELRAHMAN, R. S. Sitagliptin exerts anti-apoptotic effect in nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, v. 390, p. 721 – 731, 2017.
- ABOLAJI, A. O.; OJO, M.; AFOLABI, T. T.; AROWOOGUN, M. D.; NAWAWOLOR, D.; FAROMBI, E. O. Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. **Chem Biol Interact**, v. 270, p. 15 – 23, 2017.
- ABRAHAM, N. G.; CAO, J.; SACERDOTI, D.; LI, X.; DRUMMOND, G. Heme oxygenase: The key to renal function regulation. **Am. J. Physiol. Renal. Physiol.**, v. 297, n. 5, p. 1137 – 1152, 2009.
- AKCAY, A.; NGUYEN, Q.; EDELSTEIN, C, L. Mediators of Inflammation in Acute Kidney Injury. **Mediators of Inflammation**, v. 2009, n. 137072, p. 1 – 12, 2009.
- AKCAY, A.; NGUYEN, Q.; HE, Z.; TURKMEN, K.; WON, L. D.; HERNANDO, A. A.; ALTMANN, C.; TOKER, A.; PACIC, A.; LJUBANOVIC, D. G.; JANI, A.; FAUBEL, S.; EDELSTEIN, C. L. IL-33 exacerbates acute kidney injury. **J Am Soc Nephrol.**, v. 22, n. 11, p. 2057 – 2067, 2011.
- AGARWAL, R.; GUPTA, V. Cyclodextrins -A review on pharmaceutical applications for drug delivery. **Modi Mundi Pharma Research and Development Centre, Modi Mundipuram Meerut. IJPR**, v. 2, n. 1, p. 95 – 112, 2012.
- AHMAD, S. N. S. et al. Tangeretin protects renal tubular epithelial cells against experimental cisplatin toxicity. **Iran J Basic Med Sci.**, v. 22, n. 2, 2019.
- AJAYI, B. O.; ADEDARA, I. A.; FAROMBI, E. O. Protective mechanisms of 6-gingerol in dextran sulfate sodium-induced chronic ulcerative colitis in mice. **Hum Exp Toxicol**, v. 10, p. 1054 – 1068, 2018.
- ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- ALGANDABY, M. M.; EL-HALAWANY, A. M.; ABDALLAH, H. M.; ALAHDAL, A. M.; NAGY, A. A.; ASHOUR, O. M.; ABDEL-NAIM, A. B. Gingerol protects against experimental liver fibrosis in rats via suppression of pro-inflammatory and profibrogenic mediators. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.**, v. 389, n. 4, p. 419 – 428, 2016.

ALTUN, G.; PULATHAN, Z.; KARAHAN, S. C.; YULUG, E. N-acetylcysteine reduces oxidative stress on end-organs in an ischemia-reperfusion rat model. **Annals of Medical Research**, v. 27, n. 3, p. 722 – 727, 2020.

AMINIAN, A.; JAVADI, S.; RAHIMIAN, R.; DEHPOUR, A. R.; ASADI, A. F.; MOGHADDAS, P.; EJTEMAEI, M. S. Enhancement of cisplatin nephrotoxicity by morphine and its attenuation by the opioid antagonist naltrexone. **Acta Med Iran**, v. 54, p. 422 – 429, 2016.

ANSARI, F. A.; KHAN, A. A.; MAHMOOD, R. Ameliorative effect of carnosine and N - acetylcysteine against sodium nitrite induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 120, n. 9, p. 7032 – 7044, 2019.

ANTUNES, L. M.; DARIN, J. D.; BIANCHI, M. D. Protective effects of vitamin c against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. **Pharmacol Res**, v. 41, p. 405 – 411, 2000.

APPENROTH, D.; WINNEFELD, K.; SCHRÖTER, H.; ROST, M. Beneficial effect of acetylcysteine on cisplatin nephrotoxicity in rats. **J Appl Toxicol**, v. 13, p. 189 – 92, 1993.

ARANY, I.; SAFIRSTEIN, R. L. Cisplatin nephrotoxicity. **Semin. Nephrol.**, v. 23, p. 460 – 464, 2003.

ARATANI, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 640, p. 47 – 52, 2018.

ASHRAFI, F.; NEMATBAKHSH, M.; NASRI, H.; TALEBI, A.; HOSSEINI, S. M.; ASHRAFI, M. Vacuolization, dilatation, hyaline cast, debris or degeneration: which one is the most correlated item to score the kidney damage pathologically in Cisplatin induced nephrotoxicity model? **Nephrourol Mon**, v. 5, n. 4, p. 918 – 920, 2013.

AZOUZ, A. A.; ABDEL-RAZEK, E. A. N.; ABO-YOUSSEF, A. M. Amlodipine alleviates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats through gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) enzyme inhibition, associated with regulation of Nrf2/HO-1, MAPK/NF-κB, and Bax/Bcl-2 signaling. **Saudi Pharmaceutical Journal**, disponível online, 2020.

BAGSHAW, S. M.; LAUPLAND, K. B.; DOIG, C. J.; MORTIS, G.; FICK, G. H.; MUCENSKI, M.; GODINEZ-LUNA, T.; SVENSON, L. W.; ROSENAL, T. Prognosis for long-term survival and renal recovery in critically ill patients with severe acute renal failure: a population-based study. **Crit Care**, v. 9, p. 700 – 709, 2005.

BASILE, D. P.; ANDERSON, M. D.; SUTTON, T. A. Pathophysiology of acute kidney injury. **Compr Physiol**, v. 2, p. 1303 – 1353, 2012

BENOEHR, P.; KRUETH, P.; BOKEMEYER, C.; GRENZ, A.; OSSWALD, H.; HARTMANN, J. T. Nephroprotection by theophylline in patients with cisplatin chemotherapy: a randomized, single-blinded, placebo-controlled trial. **J Am Soc Nephrol**, v. 16, p. 452 – 458, 2005.

BLANTZ, R. C. Pathophysiology of pre-renal azotemia. **Kidney Int**, v. 53, p. 512 – 23, 1998.

BONVENTRE, J. V. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A specific and sensitive biomarker of kidney injury. **The Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, v. 68, n. S241, p. 78 – 83, 2008.

BOURBOULIA, D.; STETLER-STEVENSON, W. G. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. **Seminars in cancer biology**, v. 20, n. 3, p. 161 – 168, 2010.

BOVING, T.; WANG, X.; BRUSSEAU, M. L. Use of cyclodextrins for the remediation of solvent contaminated porous media. **Groundwater Quality: Remediation and Protectio (Proceedings of the GQ'98 Conference held at 437 Tubingen, Germany, September 1998)**, v. 250, p. 437 – 440, 1998.

BOYCE, M.; YUAN, J. Cellular response to endoplasmic reticulum stress: a matter of life or death. **Cell Death Differ.**, v. 13, p. 363 – 373, 2006.

BRITO, M. V. H.; MOREIRA, R. J.; TAVARES, M. L. C.; CABALLO, M. C. S.; CARNEIRO, T. X.; SANTOS, A. A. S. Efeito do óleo de copaíba nos níveis séricos de ureia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 243 – 246, 2005.

BURGER, H.; NOOTER, K.; BOERSMA, A.W.M.; KORTLAND, C.J.; STOTER, G. Lack of correlation between cisplatin-induced apoptosis, p53 status and expression of Bcl-2 family proteins in testicular germ cell tumour cell lines. **Int. J. Cancer**, v. 73, p. 592 – 599, 1997.

BURKE, S. J.; LU, D.; SPARER, T. E.; MASI, T.; GOFF, M. R.; KARLSTAD, M. D.; COLLIER, J. J. NF- $\kappa$ B and STAT1 control CXCL1 and CXCL2 gene transcription. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 306, n. 2, p. 131 – 149, 2014.

CAI, Z.; LOU, Q.; WANG, F.; LI, E.; SUN, J.; FANG, H.; XI, J.; JU, L. N-acetylcysteine protects against liver injure induced by carbon tetrachloride via activation of the Nrf2/HO-1 pathway. **Int J Clin Exp Pathol.**, v. 8, n. 7, p. 8655 – 8662, 2015.

CASANOVA, A. G.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, M. T.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, F. J.; MARTÍNEZ-SALGADO, C.; PRIETO, M.; VICENTE-VICENTE, L.; MORLAES, A. I. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of clinically tested protectants of cisplatin nephrotoxicity. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 76, p. 23 – 33, 2020.

CIARIMBOLI, G.; LUDWIG, T.; LANG, D. F.; PAVENSTADT, H.; KOEPESELL, H.; PIECHOTA, H. J.; HAIER, J.; JAEHDE, U.; ZISOWSKY, J.; SCHLATTER, E. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the humanorganic cation transporter 2. **Am. J. Pathol.**, v. 167, p. 1477 – 1484, 2005.

CHAND, D. H.; PATWARDHAN, M. Drug-Induced Nephrotoxicity. **Critical Care Pediatric Nephrology and Dialysis: A Practical Handbook**. 1 ed. Singapore: Springer, p. 215 – 221, 2019.

CHAVES, C. M. P.; LIMA, F. E. T.; FERNANDES, A. F. C.; MATIAS, E. O.; ARAUJO, P. R. Assessment of the preparation and administration of oral medications to institutionalized children. **Rev Bras Enferm.**, v. 71, n. 3, p. 1388 – 1394, 2018.

CHÁVEZ-IÑIGUEZ, J. S.; GARCÍA-GARCÍA, G.; LOMBARDI, R. Epidemiología y desenlaces de la lesión renal aguda en Latinoamérica. **Gaceta Médica de México**, v. 154, sup. 1, p. 6 – 14, 2018.

CHAWLA, L. S.; AMDUR, R. L.; AMODEO, S.; KIMMEL, P. L.; PALANT, C. E. The severity of acute kidney injury predicts progression to chronic kidney disease. **Kidney Int**, v. 79, p. 1361 – 1369, 2011.

CHEN, Y.; HASHIGUCHI, N.; YIP, L.; JUNGER, W. G. Hypertonic saline enhances neutrophil elastase release through activation of P2 and A3 receptors. **Am. J. Physiol.**, v. 290, p. 1051 – 1059, 2006.

CHEN, W. Y.; HSIAO, C. H.; CHEN, Y. C.; HO, C. H.; WANG, J. J.; HSING, C. H.; WANG, H. Y.; KAN, W. C.; WU, C. C. Cisplatin Nephrotoxicity Might Have a Sex Difference. An analysis Based on Women's Sex Hormone Changes. **Journal of Cancer**, v. 8, n. 19, p. 3939 – 3944, 2017.

CHEN, P.; LIANG, H. W.; LV, X. H.; ZHU, H. Z.; YAO, H. B.; YU, S. H. Carbonaceous nanofiber membrane functionalized by $\beta$ -CDs for molecular filtration. **Acs Nano**, v. 5, n. 7, p. 5928 – 5935, 2011.

CHIESI FARMACEUTICI S.P.A. CHIESI, P.; SERVADIO, V. **New compounds having anti-inflammatory activity, obtained by complexation with beta-cyclodextrin, and pharmaceutical compositions containing them**. IT19840019735, 22 fev 1984, 1985.

CHIRINO, Y. I. Peroxynitrite decomposition catalyst ameliorates renal damage and protein nitration in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **BMC Pharmacology**, v. 4, n. 20, 2004.

CHIRINO, Y. I.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Role of oxidative and nitrosative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity. **Exp. Toxicol. Pathol.**, v. 61, p. 223 – 242, 2009.

CHO H. S., JANG H. N., JUNG M. H.; JANG, S. J.; JEONG, S. H.; LEE, T. W.; BAE, E.; CHANG, S. H.; PARK, D. J.; KIM, J. H. The protective effect of human adipose derived mesenchymal stem cells on cisplatin-induced nephrotoxicity is dependent on their level of expression of heme oxygenase-1. **European Journal of Inflammation**, v. 18, p. 1 – 11, 2020.

CLARKSON, M. R.; MAGEE, C. N.; BRENNER, B. M. Acute Kidney Injury. **Pocket Companion to Brenner and Rector's The Kidney** (Chapter 10). 2 ed. Elsevier, p. 201 – 221, 2011.

COCA, S. G.; KING, J. T. J. R.; ROSENTHAL, R. A.; PERKAL, M. F.; PARIKH, C. R. The duration of postoperative acute kidney injury is an additional parameter predicting long-term survival in diabetic veterans. **Kidney Int**, v. 78, p. 926 – 933, 2010.

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

COURTNEY, A. E.; MAXWELL, A. P. Heme oxygenase 1: does it have a role in renal cytoprotection? **Am. J. Kidney Dis.**, v. 51, n. 4, p. 678 – 690, 2008.

COSTA, J. C.; NETO, O. M. Insuficiência renal aguda. **Simpósio: Urgência e emergência nefrológicas**, São Paulo, v. 36, p.307 – 324, 2003.

COUTO, N.; WOOD, J.; BARBER, J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. **Free Radic Biol Med.**, v. 95, p. 27 – 42, 2016.

CRIVELLENTI, L. Z.; MESA, J. S.; MEIRELLES, A. É.; CRIVELLENTI, S. B.; MIREYA, E. G.; CANOLA, J. C.; HATAYDE, M. R.; SANTANA, A. E.; DANTAS, M.; SILVA, G. E. False positivity of gamma-glutamyl transpeptidase measurement in urine. **Ren Fail**, v. 36, n. 4, p. 581 – 584, 2014.

CRONA, D. J.; FASO, A.; NISHIJIMA, T. F.; MCGRAW, K. A.; GALSKY, M. D.; MILOWSKY, M. I. A Systematic Review of Strategies to Prevent Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. **Oncologist**, v. 22, n. 5, p. 609 – 619, 2017.

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, p. 43 – 50, 2007.

DASARI, S.; TCHOUNWOU, P. B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. **Eur J Pharmacol.**, v. 740, p. 364 – 378, 2014.

DAUGAARD, G.; ABILDGAARD, U.; HOLSTEIN-RATHLOU, N. H.; BRUUNSHUUS, I.; BUCHER, D.; LEYSSAC, P. P. Renal tubular function in patients treated with high-dose cisplatin. **Clin Pharmacol Ther**, v. 44, n. 2, p. 164 – 172, 1988.

DAVIS, M. E.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. **Nature reviews**, v. 3, p. 1023 – 1035, 2004.

DE JONGH, F. E.; VAN VEEN, R. N.; VELTMAN, S. J.; DE WIT, R. VAN DER BURG, M. E.; VAN DEN BENT, M. J.; PLANTING, A. S.; GRAVELAND, W. J.; STOTER, G.; VERWEIJ, J. Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option: analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients. **Br J Cancer.**, v. 88, n. 8, p. 1199 – 1206, 2003.

DECATRISA, M. P.; SUNDARB, S.; O'BYRNE, K. J. Platinum-based chemotherapy in metastatic breast cancer: current status. **Cancer Treatment Reviews**, v. 4, p. 51 – 83, 2004.

DENG, B.; LIN, Y.; MA, S.; ZHENG, Y.; YANG, X.; LI, B.; YU, W.; XU, Q.; LIU, T.; HAO, C.; HE, R.; DING, F. The leukotriene B<sub>4</sub>-leukotriene B<sub>4</sub> receptor axis promotes cisplatin-induced acute kidney injury by modulating neutrophil recruitment. **Kidney Int.**, v. 92, n. 1, p. 89 – 100, 2017.

DESILETS, A.; ADAM, J. P.; SOULIÈRES, D. Management of cisplatin-associated toxicities in bladder cancer patients. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 14, n. 3, p. 286 – 292, 2020.

DICKEY, D.T.; MULDOON, L. L.; DOOLITTLE, N. D. PETERSON, D. R.; KRAEMER, D. F.; NEUWELT, E. A. Effect of N-acetylcysteine route of administration on chemoprotection against cisplatin-induced toxicity in rat models. **Anc Sci Life**, v. 62, p. 235 – 241, 2008.

DICKEY, D. T.; WU, Y. J.; MULDOON, L. L.; NEUWELT, E. A. Protection against cisplatin-induced toxicities by N-acetylcysteine and sodium thiosulfate as assessed at the molecular, cellular, and in vivo levels. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 314, p. 1052 – 1058, 2005.

DHILLON, A. S.; HAGAN, S.; RATH, O.; KOLCH, W. MAP kinase signalling pathways in cancer. **Oncogene**, v. 26, 3279 – 3290, 2007.

DIRKES, S. M. Acute Kidney Injury vs Acute Renal Failure. **Rev. Critical Care Nursev**, v. 36, n. 6, 2016.

DISSANAYAKE, K. G. C.; WALIWITA, W. A. L. C.; LIYANAGE, R. P. A Review on Medicinal Uses of *Zingiber officinale* (Ginger). **International Journal of Health Sciences and Research**, v. 10, n. 6, p. 142 – 148, 2020.

DOI, K.; NOIRI, E.; SUGAYA, T. Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new renal biomarker in critical care. **Curr Opin Crit Care**, v. 16, p. 545 – 549, 2010.

DRAWZ, P. E.; MILLER, R. T.; SEHGAL, A. R. Predicting hospital-acquired acute kidney injury--a case-controlled study. **Ren Fail**, v. 30, p. 848 – 855, 2008.

DREGER, H.; WESTPHAL, K.; WELLER, A.; BAUMANN, G.; STANGL, V.; MEINERS, S.; STANGL, K. Nrf2-dependent upregulation of antioxidative enzymes: a novel pathway for proteasome inhibitor-mediated cardioprotection. **Cardiovasc Res.**, v. 83, n. 2, p. 354 – 361, 2009.

DRIESSEN, C. M.; UIJEN, M. J.; VAN DER GRAAF, W. T.; VAN OPSTAL, C. C.; KAANDERS, J. H.; NIJENHUIS, T.; VAN HERPEN, C. M. Degree of nephrotoxicity after intermediate- or high-dose cisplatin-based chemoradiotherapy in patients with locally advanced head and neck cancer. **Head Neck.**, v. 38, suppl 1, p. 1575 – 1581, 2016.

DUGASANI, S.; PICHIKAC, M. R.; NADARAJAHC, V. D.; BALIJEPALLIC, M. K.; TANDRAA, S.; KORLAKUNTA, J. N. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. **Journal of ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 515 – 520, 2010.

DUGBARTEY, G. J.; PEPPONE, L. J.; DE GRAAF, I. A. An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. **Toxicology**, v. 371, p. 58 – 66, 2016.

EASTBURN, S. D.; TAO, B. Y. Applications of modified cyclodextrins. **Biotechnol. Adv.**, v. 12, p. 325 – 339, 2004.

EATON, D. C.; POOLER, J. P. **Fisiologia renal de Vander**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.



EL-ARABEY, A. A. Re: Sex differences in nephroprotective effect of recombinant human erythropoietin in rats. **Iran J Kidney Dis.**, v. 9, n. 2, p. 163, 2015.

EL-FATTAH, H. M. A.; EL-SHEIKH, N. M. Evaluation of Chemoprotective Role of N-Acetylcysteine and Vitamin E on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 6, n. 3, p. 263 – 270, 2012.

EMANUELLI, M. P., LOPES, S. T. A., MACIEL, R. M., GARMATZ, B. C.; TAVARES, M. O. Concentração sérica de fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, ureia e creatinina em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 251 – 255, 2008.

ESHRAGHI-JAZI, F.; NEMATBAKHSH, M.; NASRI, H.; TALEBI, A.; HAGHIGHI, M.; PEZESHKI, Z.; SAFARI, T.; ASHRAFI F. The protective role of endogenous nitric oxide donor (L-arginine) in cisplatin-induced nephrotoxicity: Gender related differences in rat model. **J Res Med Sci**, v. 16, n. 11, p. 1389 – 1396, 2011.

ESHRAGHI-JAZI, F.; NEMATBAKHSH, M.; PEZESHKI, Z.; NASRI, H.; TALEBI, A.; SAFARI, T.; MANSOURI, A.; MAZAHARI, S.; ASHRAFI F. Sex differences in protective effect of recombinant human erythropoietin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Iran J Kidney Dis**, v. 7, p. 383 – 389, 2013.

Estruturas de [6]-shogaol, [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol. Disponível em: <<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4445106.html?rid=83089d97-d8ca-4a97-9af2-a1123596de27>> para [6]-shogaol; <[https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.391126.html?rid=16e1e352-d03c-4b53-9eb9-57da0fd40fda&page\\_num=0](https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.391126.html?rid=16e1e352-d03c-4b53-9eb9-57da0fd40fda&page_num=0)> para [6]-gingerol; <<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.147054.html?rid=568b0a31-21a2-4ba2-b8a0-3f0354d86e1b>> para [8]-gingerol; <[http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.147055.html?%20rid=a2e8c30f-67ff-43bb-9b9d-b526a54aae92&page\\_num=0](http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.147055.html?%20rid=a2e8c30f-67ff-43bb-9b9d-b526a54aae92&page_num=0)> para [10]-gingerol. Acesso em: 08 junho 2021.

Estrutura da Cisplatina. Disponível em <[https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.71116674.html?rid=ed6a6d4c-57c4-4222-97f2-16a630a8b6c5&page\\_num=0](https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.71116674.html?rid=ed6a6d4c-57c4-4222-97f2-16a630a8b6c5&page_num=0)>. Acesso em: 08 junho 2021.

FAIG, J.; HAUGHTON, M.; TAYLOR, R. C.; D'AGOSTINO, R. B. Jr.; WHELEN, M. J.; POROSNICU, K. A. R.; BONOMI, M.; MUREA, M.; POROSNICU, M. Retrospective Analysis of Cisplatin Nephrotoxicity in Patients With Head and Neck Cancer Receiving Outpatient Treatment With Concurrent High-dose Cisplatin and Radiotherapy. **Am J Clin Oncol.**, v. 41, n. 5, p. 432 – 440, 2018.

FAUBEL, S.; LEWIS, E. C.; REZNIKOV, L.; LJUBANOVIC, D.; HOKE, T. S.; SOMERSET, H.; OH, D. J.; LU, L.; KLEIN, C. L.; DINARELLO, C. A.; EDELSTEIN, C.

L. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 322, p. 8 – 15, 2007.

FERREIRA, F. C. S. **Propriedades uroprotetoras dos compostos [6]-, [8]- e [10]-gingerol isolados do zingiber officinale na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida em camundongos.** 2017. 88f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M.; VAN DER VEER, J. L.; DEN HARTOG, J. H.; LOHMAN, P. H.; REEDIJK, J. Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum (II) with DNA: formation, identification, and quantitation. **Biochemistry**, v. 24, p. 707 – 713, 1985.

FICKER, C.; SMITH, M. L.; AKPAGANA, K.; GBEASSOR, M.; ZHANG, J.; DURST, T.; ASSABGUI, R.; ARNASON, J. T. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 897 – 902, 2003.

FOSTER-NORA, J. A.; SIDEN, R. Amifostine for protection from antineoplastic drug toxicity. **Am J Health Syst Pharm.**, v. 54, n. 7, p. 787 – 800, 1997.

FRAGOSO-SERRANO, M.; GIBBONS, S.; PEREDA-MIRANDA, R. Anti-staphylococcal and citotoxic compounds from *Hyptis pectinata*. **Planta Med.**, v. 71, p. 278 – 280, 2005.

FRANGOGIANNIS, N. G. Chemokines in ischemia and reperfusion. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 97, n. 5, p. 738 – 747, 2007.

FREITAS, A. A. R.; RIBEIRO, A. J.; SANTOS, A. C.; VEIGA, F.; NUNES, L. C. C.; SILVA, D. A.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA-FILHO, E. C. Sterculia striata gum as a potential oral delivery system for protein drugs. **Int J Biol Macromol.**, v. 164, p. 1683 – 1692, 2020.

GALANSKI, M.; JAKUPEC, M. A.; KEPPLER, B. K. Update of the preclinical situation of anticancer platinum complexes: novel design strategies and innovative analytical approaches. **Curr. Med. Chem.**, v. 12, p. 2075 – 2094, 2005.

GAMEIRO, J.; FONSECA, J. A.; OUTERELO, C.; LOPES, J. A. Acute Kidney Injury: From Diagnosis to Prevention and Treatment Strategies. **J. Clin. Med.**, v. 9, n. 6, 1704, p. 1 – 21, 2020.

GATELY, D. P.; HOWELL, S. B. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. **Br. J. Cancer**, v. 67, p. 1171 – 1176, 1993

GHEORGHE-CETEAN, S.; CAINAP, C.; OPREAN, L.; HANGAN, A.; VIRAG, P.; FISCHER-FODOR, E.; GHERMAN, A.; CAINAP, S.; CONSTANTIN, A. N.; LASZLO, I.; VLAD, C.; OPREAN, R. Platinum derivatives: a multidisciplinary approach. **Journal of the Balkan Union of Oncology**, v. 22, p. 568 – 577, 2017.

GHOSH, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, 102925, 2019.

GIL, E. S.; WU, L.; XU, L.; LOWE, T. L.  $\beta$ -cyclodextrin-poly ( $\beta$ -amino ester) nanoparticles for sustained drug delivery across the blood-brain barrier. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 11, p. 3533 – 3541, 2012.

GLUBA, A.; BANACH, M.; HANNAM, S.; MIKHAILIDIS, D. P.; SAKOWICZ, A.; RYSZ, J. The role of Toll-like receptors in renal diseases. **Nat Rev Nephrol.**, v. 6, n. 4, p. 224 – 235, 2010.

GOLDSTEIN, S. L. Medication-induced acute kidney injury. **Current Opinion in Critical Care**, v. 22, n. 6, p. 542 – 545, 2016.

GÓMEZ-SIERRA, T.; Eugenio-Pérez, D.; Sánchez-Chinchillas, A.; Pedraza-Chaverri, J. Role of food-derived antioxidants against cisplatin induced-nephrotoxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 120, p. 230 – 242, 2018.

GORBOULEV, V.; ULZHEIMER, J. C.; AKHOUNDOVA, A.; ULZHEIMER, I. T.; KARBACH, U.; QUESTER, S.; BAUMANN, C.; LANG, F.; BUSCH, A. E.; KOEPESELL, H. Cloning and characterization of two human polyspecific organic cation transporters. **DNA Cell Biol.**, v. 16, p. 871 – 881, 1997.

GORRIZ, J. L.; MARTINEZ-CASTELAO, A. Proteinuria: detection and role in native renal disease progression. **Transplant Rev (Orlando)**, v. 26, n. 1, p. 3-13, 2012.

GOVINDARAJAN, V. Ginger-chemistry technology and quality evaluation: Part-I CRC. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 17, p. 1 – 96, 1982.

GRZANNA, R.; LINDMARK, L.; FRONDOZA, C. G. Ginger: an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. **J. Med. Food**, v. 8, p. 125 – 132, 2005.

GUIMARÃES, F. B. **Avaliação da atividade da gama glutamil transpeptidase urinária em cães que receberam gentamicina em dose terapêutica**. 2000. 68 f. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

GÜNTÜRK, I.; YAZICI, C.; KÖSE, S. K.; DAĞLI, F.; YÜCEL, B.; YAY, A. H. The effect of N-acetylcysteine on inflammation and oxidative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity: a rat model. **Turk J Med Sci**, v. 49, p. 1789 – 1799, 2019.

GUPTA, S. K.; SHARMA, A. Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe – A Review. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 9, n. 5, p. 124 – 129, 2014.

HABEBALLA, R. S.; AHMEDANI, E. I.; AWAD, N. S.; ABDEIN, M. A. In vitro antiviral activity of *Illicium verum* and *Zingiber officinale* ethanolic extracts. **Medical Science**, v. 24, n. 105, p. 3469 – 3480, 2020.

HAGHIGHI, M.; NEMATBAKHSH, M.; TALEBI, A.; NASRI, H.; ASHRAFI, F.; ROSHANAIEI, K.; ESHRAGHI-JAZI, F.; PEZESHKI, Z.; SAFARI, T. The role of angiotensin II receptor 1 (AT1) blockade in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: gender-related differences. **Ren Fail.**, v. 34, n. 8, p. 1046 – 1051, 2012.

HAMBLEY, T. W. Platinum binding to DNA: structural controls and consequences, **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, v. 19, p. 2711 – 2718, 2001.

HAN, S. J.; KIM, M.; D'AGATI, V. D.; LEE, H. T. 6-Shogaol protects against ischemic acute kidney injury by modulating NF- $\kappa$ B and heme oxygenase-1 pathways. **Am J Physiol Renal Physiol.**, v. 317, n. 3, p. 743 – 756, 2019.

HAN, S. J.; LEE, H. T. Mechanisms and therapeutic targets of ischemic acute kidney injury. **Kidney Res Clin Pract**, publicado online, 2019.

HAN, W. K.; BAILLY, V.; ABICHANDANI, R.; THADHANI, R.; BONVENTRE, J. V. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney Int.**, v. 62, n. 1, p. 237 – 244, 2002.

HANNEMANN, J.; DUWE, J.; BAUMANN, K. Iron- and ascorbic acid-induced lipid peroxidation in renal microsomes isolated from rats treated with platinum compounds. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 28, p. 427 – 433, 1991.

HAYATI, F.; HOSSAINZADEH, M.; SHAYANPOUR, S.; ABEDI-GHESHLAGHI, Z.; BELADI MOUSAVI, S. S. Prevention of cisplatin nephrotoxicity. **J Nephropharmacol.**, v. 5, n. 1, p. 57 – 60, 2015.

HE, Q.; LIANG, C. H.; LIPPARD, S. J. Steroid hormones induce HMG1 overexpression and sensitize breast cancer cells to cisplatin and carboplatin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 11, p. 5768 – 5772, 2000.

HEGAZY, A. M. S.; MOSAED, M. M.; ELSHAFFEY, S. H.; BAYOMY, N. A. 6-gingerol ameliorates gentamicin induced renal cortex oxidative stress and apoptosis in adult male albino rats. **Tissue and Cell**, v. 48, n. 3, p. 208 – 216, 2016.

HENNEMANN, C. R. A.; SILVA, C. F.; SCHOENAU, W.; KOMMERS, G. D.; POLYDORO, A. S.; LEITZKE, M. R. M. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de ureia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. **Ciência Rural**, v. 27, n. 2, p. 237 – 244, 1997.

HIGUCHI, K.; YANAGAWA, T. Evaluating dose of cisplatin responsible for causing nephrotoxicity. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, 2019.

HIGGINS, C. **Urea and creatinine concentration, the urea: Creatinine ratio**, 2016. Disponível em: <<https://acutecaretesting.org/-/media/acutecaretesting/files/pdf/urea-and-creatinine-concentration-the-ureacreatinine-ratio.pdf>>. Acesso em: 05 out. 2020.

HIRAYAMA, K.; YASUTAKE, A.; INOUE, M. Effect of sex hormones on the fate of methylmercury and on glutathione metabolism in mice. **Biochem. Pharmacol.**, v. 36, p. 1919 – 1924, 1987.

HO, S. C.; CHANG, K. S.; LIN, C. C. Anti-neuroinflammatory capacity of fresh ginger is attributed mainly to 10-gingerol. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 3183 – 3191, 2013.

HONG, M. K.; HU, L. L.; ZHANG, Y. X.; XU, Y. L.; LIU, X. Y.; HE, P. K.; JIA, Y. H. 6-Gingerol ameliorates sepsis-induced liver injury through the Nrf2 pathway. **Int Immunopharmacol.**, v. 80, n. 106196, 2020.

HORNE, K. L.; PACKINGTON, R; MONAGHAN, J.; REILLY, T.; SELBY, N. M. Three-year outcomes after acute kidney injury: results of a prospective parallel group cohort study. **Jor BMJ Open**, v. 7, ed. 3, 2017.

HOSOHATA, K. Role of Oxidative Stress in Drug-Induced Kidney Injury. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 17, 1826, p. 1 – 10, 2016

HOSTE, E. A.; BAGSHAW, S. M.; BELLOMO, R.; CELY, C. M.; COLMAN, R.; CRUZ, D. N.; EDIPIDIS, K.; FORNI, L. G.; GOMERSALL, C. D.; GOVIL, D.; HONORÉ, P. M.; JOANNES-BOYAU, O.; JOANNIDIS, M.; KORHONEN, A. M.; LAVRENTIEVA, A.; MEHTA, R. L.; PALEVSKY, P.; ROESSLER, E.; RONCO, C.; UCHINO, S.; VAZQUEZ, J. A.; VIDAL ANDRADE, E.; WEBB, S. KELLUM, J. A. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. **Intensive Care Med.**, v. 41, n. 8, p. 1411 – 1423, 2015.

HOZAYEN, W. G.; ABOUSEIF, H. S. Chemopreventive effects of *Zingiber officinale* extract against aspartame induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat model. **Journal of International Academic Research for Multidisciplinary**, v. 3, n. 1, p. 261 – 273, 2015.

HU, Y. J.; CHEN, Y.; ZHANG, Y. Q.; ZHOU, M. Z.; SONG, X. M.; ZHANG, B. Z.; LUO, L.; XU, P. M.; ZHAO, Y. N.; ZHAO, Y. B.; CHENG, G. The protective role of selenium on the toxicity of cisplatin-contained chemotherapy regimen in cancer patients. **Biol Trace Elem Res**, v. 56, n. 3, p. 331 – 341, 1997.

HUANG, Y.; LI, W.; SU, Z. Y.; KONG, A. N. The complexity of the Nrf2 pathway: beyond the antioxidant response. **J Nutr Biochem.**, v. 26, n. 12, p. 1401 – 1413, 2015.

HUANG, Y. C.; TSAI, M. S.; HSIEH, P. C.; SHIH, J. H.; WANG, T. S.; WANG, Y. C.; LIN, T. H.; WANG, S. H. Galangin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammation and cell death in mice through inhibition of ERK and NF-kappaB signaling. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 329, p. 128 – 139, 2017.

HUANG, S.; YOU, J.; WANG, K.; LI, Y.; ZHANG, Y.; WEI, H.; LIANG, X.; LIU, Y. N-Acetylcysteine Attenuates Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting the C5a Receptor. **BioMed Research International**, v. 2, p. 1 – 11, 2019.

HULSE, M.; ROSNER, M. H. Drugs in Development for Acute Kidney Injury. **Drugs**, v. 79, p. 811 – 821, 2019

HUNG, C. C.; CHANG, C. T.; CHEN, K. H.; TIAN, Y. C.; WU, M. S.; PAN, M. J.; VANDEWALLE, A.; YANG, C. W. Upregulation of chemokine CXCL1/KC by leptospiral membrane lipoprotein preparation in renal tubule epithelial cells. **Kidney Int.**, v. 69, n. 10, p. 1814 – 1822, 2006.

ISHIDA, S.; LEE, J.; THIELE, D. J.; HERSKOWITZ, I. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, p. 14298 – 14302, 2002.

JING, Y.; WU, X.; JIANG, H.; WANG, R. Nephroprotective effects of eriocitrin via alleviation of oxidative stress and DNA damage against cisplatin-induced renal toxicity. **Turkish Journal of Biochemistry**, v. 45, n. 4, p. 381–388, 2020.

JIANG, H. **Modern Tools to Study Traditional Medicinal Plants: Ginger and Turmeric**. 2005. 262 f. Dissertation (Degree of Doctor of Philosophy) – Faculty of the Department of Pharmaceutical Sciences, The University of Arizona, 2005.

JIANG, M.; DONG, Z. Regulation and Pathological Role of p53 in Cisplatin Nephrotoxicity. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 327, p. 300 – 307, 2008.

JIANG, M.; WANG, C. Y.; HUANG, S.; YANG, T.; DONG, Z. Cisplatin-induced apoptosis in p53-deficient renal cells via the intrinsic mitochondrial pathway. **Am. J. Physiol.: Renal Physiol.**, v. 296, p. 983 – 999, 2009.

JIANG, M.; WEI, Q.; WANG, J.; DU, Q.; YU, J.; ZHANG, L.; DONG, Z. Regulation of PUMA-alpha by p53 in cisplatin-induced renal cell apoptosis. **Oncogene**, v. 25, p. 4056 – 4066, 2006.

JIANG, S. Z.; WANG, N. S.; MI, S. Q. Plasma pharmacokinetics and tissue distribution of 6-gingerol in rats. **Biopharmaceutics and Drug Disposition**, v. 29, p. 529 – 537, 2008.

JOSHI, D.; SRIVASTAV, S. K.; BELEMKAR, S.; DIXIT, V. A. *Zingiber officinale* and 6-gingerol alleviate liver and kidney dysfunctions and oxidative stress induced by mercuric chloride in male rats: A protective approach. **Biomed Pharmacother**, v. 91, p. 645 – 655, 2017.

JUNG, Y.; AND LIPPARD, S. J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. **Chem. Rev.**, v. 107, p. 1387 – 1407, 2007.

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, p. 29 – 34, 2004.

KADIR, A.; SHER, S.; SIDDIQUI, R. A.; MIRZA, T. Nephroprotective role of eugenol against cisplatin-induced acute kidney injury in mice. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 33, n. 3 (Suppl), p. 1281 – 1287, 2020.

KANDEMIR, F. M.; YILDIRIM, S.; CAGLAYAN, C.; KUCUKLER, S.; ESER, G. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. **Environ Sci Pollut Res**, v. 26, p. 22562 – 22574, 2019.

KARAKOC, H. T.; ALTINTAS, R.; PARLAKPINAR, H.; POLAT, A.; SAMDANCI, E.; SAGIR, M.; DURAN, Z. R. Protective Effects of Molsidomine Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. **Adv Clin Exp Med.**, v. 24, n. 4, p. 585 – 593, 2015.

KARIMZADEH, I.; KHALILI, I.; SAGHEB, M.M.; FARSAEI, S. A double-blinded, placebocontrolled, multicenter clinical trial of N-acetylcysteine for preventing amphotericin B-induced nephrotoxicity. **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.**, v. 11, n. 6, 2015.

KELLUM, J. A.; MEHTA, R. L.; ANGUS, D. C.; PALEVSKY, P.; RONCO, C. ADQI Workgroup. The first international consensus conference on continuous renal replacement therapy. **Kidney Int**, v. 62, p. 1855 – 1863, 2002.

KETTEL, M. J.; HILDEBRANDT, H.; SCHAEFER, K.; MOELLER, M.; GROLL, J. Tenside-free preparation of nanogels with high functional  $\beta$ -cyclodextrin content. **ACS Nano.**, v. 6, n. 9, p. 8087 – 8093, 2012.

KHAN, M.; ULLAH, N.; AZHAR M.; KOMAL, W.; MUHAMMAD, W. Mini-Review on the Therapeutic Potential of *Zingiber officinale* (ginger). **Nat Prod Ind J.**, v. 15, n. 1, p. 1 – 6, 2019.

KHOR, C. S.; WANG, W. J. The role of acute kidney injury duration in clinical practice. **Ann Transl Med**, v. 7, suplemento 3, 2019.

KHWAJA, A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. **Nephron Clin Pract**, v. 120, p. 179 – 184, 2012.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. **Kidney inter Suppl**, v. 2, p. 1 – 141, 2012.



KIM, J. Poly (ADP-Ribose) Polymerase activation induces high mobility group Box 1 release from proximal tubular cells during cisplatin nephrotoxicity. **Physiol. Res.**, v. 65, n. 2, p. 333 – 340, 2016.

KIM, H. J.; PARK, D. J.; KIM, J. H.; JEONG, E. Y.; JUNG, M. H.; KIM, T. H.; YANG, J. I.; LEE, G. W.; CHUNG, H. J.; CHANG, S. H. Glutamine protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing cisplatin accumulation. **J Pharmacol Sci**, v. 127, n. 1, p. 117 – 126, 2015.

KIZHAKKAYIL, J.; SASIKUMAR, B. Diversity, characterization and utilization of ginger: a review. **Plant Genet. Res.**, v. 9, n. 3, p. 464 – 477, 2011.

KONO, H.; ROCK, K. L. How dying cells alert the immune system to danger. **Nat Rev Immunol.**, v. 8, n. 4, p. 279 – 289, 2008.

KOYNER, J. L.; SHER ALI, R.; MURRAY, P. T. Antioxidants. Do they have a place in the prevention or therapy of acute kidney injury? **Nephron Exp Nephrol.**, v. 109, n. 4, p. 109 – 117, 2008.

KPEMISSI, M.; EKLUGA-DEGBEKE, K.; VEERAPUR, V. P.; NEGRU, M.; TAULESCU, M.; CHANDRAMOHAN, V.; HIRIYAN, J.; BANAKAR, S. M.; NV, T.; SUHAS, D. S.; PUNEETH, T. A.; VIJAYAKUMAR, S.; METOWOGO, K.; AKLIKOKOU, K. Nephroprotective activity of Combretum micranthum G. Don in cisplatin induced nephrotoxicity in rats: In-vitro, in-vivo and in-silico experiments. **Biomed Pharmacother**, v. 116, n. 108961, 2019.

KRUIDERING, M.; MAASDAM, D. H.; PRINS, F. A.; DE HEER, E.; MULDER, G.J.; NAGELKERKE, J. F. Evaluation of nephrotoxicity in vitro using a suspension of highly purified porcine proximal tubular cells and characterization of the cells in primary culture. **Exp Nephrol**, v. 2, p. 324 – 344, 1994.

KRUIDERING, M.; VAN DE WATER, B.; DE HEER, E.; MULDER, G. J.; NAGELKERKE, J. F. Cisplatin-induced nephrotoxicity in porcine proximal tubular cells: Mitochondrial dysfunction by inhibition of complexes I to IV of the respiratory chain. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 280, p. 638 – 649, 1997.

KUHAD, A.; TIRKEY, N.; PILKHWAL, S.; CHOPRA, K. 6-Gingerol prevents cisplatin-induced acute renal failure in rats. **BioFactors.**, v. 26, p. 189 – 200, 2006.

KUMAR, D.; KRISHNAN, Y.; PARANJOTHY, M.; PAL, S. Analysis of Molecular Interaction of Drugs within  $\beta$ -Cyclodextrin Cavity by Solution-State NMR Relaxation. **J. Phys. Chem. B**, v. 121, n. 13, p. 2864 – 2872, 2017.

KUMAR, G.; KATHIE, L.; RAO, K. V. B. A review on pharmacological and phytochemical properties of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 9, p. 2963 – 2966, 2011.

KURKOV, S. V.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins. **Int J Pharm.**, v. 453, n. 1, p. 167 – 180, 2013.

LATCHA, S.; JAIMES, E. A.; PATIL, S.; GLEZERMAN, I. G.; MEHTA, S.; FLOMBAUM, C. D. Long-Term Renal Outcomes after Cisplatin Treatment. **Clin J Am Soc Nephrol.**, v. 11, n. 7, p. 1173 – 1179, 2016.

LEE, C.; PARK, G. H.; KIM, C. Y.; JANG, J. H. [6]-Gingerol attenuates  $\beta$ -amyloid-induced oxidative cell death via fortifying cellular antioxidant defense system. **Food Chem Toxicol.**, v. 49, n. 6, p. 1261 – 1269, 2011.

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, p. 1013 – 1023, 2001.

LEE, T. Y.; LEE, K. C.; CHEN, S. Y.; CHANG, H. H. 6-Gingerol inhibits ROS and iNOS through the suppression of PKC- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B pathways in lipopolysaccharide stimulated mouse macrophages. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 382, p. 134 – 139, 2009.

LI, S. Y.; WU, P. F.; YARLAGADDA, P.; VADJUNEC, N. M.; PROIA, A. D.; HARRIS, R. A.; PORTILLA, D. PPAR alpha ligand protects during cisplatin-induced acute renal failure by preventing inhibition of renal FAO and PDC activity. **Am. J. Physiol.: Renal Physiol.**, v. 286, n. 3, p. 572 – 580, 2004.

LIEBERTHAL, W.; TRIACA, V.; LEVINE, J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: Apoptosis vs. necrosis. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 270, p. 700 – 708, 1996.

LIMA, A. A. N.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, J. L.; CORRÊA-JUNIOR, R. C. C.; LYRA, M. A. M.; SANTOS, F. L. A.; OLIVEIRA, B. G.; HERNANDES, M. Z.; ROLIM, M. A.; ROLIM-NETO, P. J. The use of solid dispersion systems in hydrophilic carriers to increase benzimidazole solubility. **Pharm. Technol.**, v. 100, n. 6, p. 2443 – 2451, 2011.

LIN, T. Y.; CANTLEY, L. C.; DENICOLA, G. M. NRF2 Rewires Cellular Metabolism to Support the Antioxidant Response, A Master Regulator of Oxidative Stress - The Transcription Factor Nrf2. **IntechOpen**, disponível online, 2021.

LIPPI, I.; PERONDI, F.; MEUCCI, V.; BRUNO, B.; GAZZANO, V.; GUIDI, G. Clinical utility of urine kidney injury molecule-1 (KIM-1) and gamma-glutamyl transferase (GGT) in the diagnosis of canine acute kidney injury. **Vet Res Commun**, v. 42, p. 95 – 100, 2018.

LIU, M.; CHIEN, C. C.; BURNE-TANEY, M.; MOLLS, R. R.; RACUSEN, L. C.; COLVIN, R. B.; RABB, H. A pathophysiologic role for T lymphocytes in murine acute cisplatin nephrotoxicity. **J Am Soc Nephrol.**, v. 17, n. 3, p. 765 – 774, 2006.

LIU, M.; JIA, Z.; SUN, Y.; ZHANG, A.; YANG, T. A H<sub>2</sub>S Donor GYY4137 Exacerbates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Mice. **Mediators Inflamm.**, v. 2016, n. 8145785, 2016.

LIU, Z.; LI, Z.; CHEN, Z.; LI, C.; LEI, L.; WU, X.; LI, Y. Numb ameliorates necrosis and inflammation in acute kidney injury induced by cisplatin. **Chem Biol Interact**, v. 330, n. 109251, 2020.

LUCIANO, R. L.; PERAZELLA, M. A. Drug-Induced Acute Kidney Injury. **Core Concepts in Acute Kidney Injury**. 1 ed. Nova York: Springer, p. 145 – 163, 2018.

LUO, J.; TSUJI, T.; YASUDA, H.; SUN, Y.; FUJIGAKI, Y.; HISHIDA, A. The molecular mechanisms of the attenuation of cisplatin-induced acute renal failure by N-acetylcysteine in rats. **Nephrol Dial Transplant**, v. 23, n. 7, p. 2198 – 2205, 2008.

LYRA, M. A. M. **Obtenção de complexos de inclusão benznidazol-ciclodextrina em solução para o combate da doença de Chagas**. 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

MA, Y.; KAWABATA, T.; HAMAZAKI, S.; OGINO, T.; OKADA, S. Sex differences in oxidative damage in ddY mouse kidney treated with a renal carcinogen, iron nitrilotriacetate. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 11, p. 1983 – 1988, 1998.

MAHBOUBI, M. *Zingiber officinale* Rosc. essential oil, a review on its composition and bioactivity. **Clinical Phytoscience**, v. 5, n. 6, p. 1 – 12, 2019.

MAKRIS, K., & SPANOU, L. Acute kidney injury: Definition, pathophysiology and clinical phenotypes. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 37, p. 85 – 98, 2016.

MANDIC, A.; HANSSON, J.; LINDER, S.; SHOSHAN, M.C. Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus-independent apoptotic signaling. **J. Biol. Chem**, v. 278, p. 9100 – 9106, 2003.

MANOHAR, S.; LEUNG, N. Cisplatin nephrotoxicity: a review of the literature. **J. Nephrol.**, v. 31, p. 15 – 25, 2017.

MARQUES, H. M. C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour Fragr. J.**, v. 25, p. 313 – 326, 2010.

MARTIN DEL VALLE, E. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 9, p. 1033 – 1046, 2004.

MARULLO, R.; WERNER, E.; DEGTYAREVA, N.; MOORE, B.; ALTAVILLA, G.; RAMALINGAM, S. S.; DOETSCH, P. W. Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. **PLoS One**, v. 8, n. 81162, 2013.

MASLOV, L. N.; NARYZHNAIA, N. V.; PODOKSENOV, I. U. K.; PROKUDINA, E. S.; GORBUNOV, A. S.; ZHANG, I.; PEI, Z. H. M. Reactive oxygen species are triggers and mediators of an increase in cardiac tolerance to impact of ischemia-reperfusion. **Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.**, v. 101, n. 1, 3 – 24, 2015.

MEGYESI, J.; SAFIRSTEIN, R. L.; PRICE, P. M. Induction of p21WAF1/CIP1/SDI1 in kidney tubule cells affects the course of cisplatin-induced acute renal failure. **J. Clin. Invest**, v. 101, p. 777 – 782, 1998.

MEHRAN, R.; AYMONG, E. D.; NIKOLSKY, E.; LASIC, Z.; IAKOVOU, I.; FAHY, M.; MINTZ, G. S.; LANSKY, A. J.; MOSES, J. W.; STONE, G. W.; LEON, M. B.; DANGAS, G. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. **J Am Coll Cardiol**, v. 44, p. 1393 – 1399, 2004.

MEHTA, R. L.; KELLUM, J. A.; SHAH, S. V.; MOLITORIS, B. A.; RONCO, C.; WARNOCK, D. G.; LEVIN, A. Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. **Crit Care**, v. 11, p. 1 – 8, 2007.

MELCHERT, A.; LAPOSY, C. B.; MOTTA, Y. P.; GARCIA, A. C. F. Z. Gama-glutamil transpeptidase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar, Umuarama**, v. 10, n. 2, p. 111 – 116, 2007.

MILLER, R. P.; TADAGAVADI, R. K.; RAMESH, G.; REEVES, W. B. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. **Toxins**, v. 2, n. 11, p. 2490 – 2518, 2010.

MITAZAKI, S.; HASHIMOTO, M.; MATSUHASHI, Y.; HONMA, S.; SUTO, M.; KATO, N.; NAKAGAWASAI, O.; TAN-NO, K.; HIRAIWA, K.; YOSHIDA, M.; ABE, S. Interleukin-6 modulates oxidative stress produced during the development of cisplatin nephrotoxicity. **Life Sci.**, v. 92, n. 12, p. 694 – 700, 2013.

MITAZAKI, S.; KATO, N.; SUTO, M.; HIRAIWA, K.; ABE, S. Interleukin-6 deficiency accelerates cisplatin-induced acute renal failure but not systemic injury. **Toxicology**, v. 265, n. 3, p. 115 – 121, 2009.

MOFFETT, B. S.; GOLDSTEIN, S. L. Acute kidney injury and increasing nephrotoxic-medication exposure in noncritically-ill children. **Clin. J. American Soc. Nephrol**, v. 6, p. 856 – 863, 2011.

MOLLS, R. R.; SAVRANSKY, V.; LIU, M.; BEVANS, S.; MEHTA, T.; TUDER, R. B.; KING, L. S.; RABB, H. Keratinocyte-derived chemokine is an early biomarker of ischemic acute kidney injury. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 290, p. 1187 – 1193, 2006.

MORISAKI, T., MATSUZAKI, T., YOKOO, K.; KUSUMOTO, M.; IWATA, K.; HAMADA, A.; SAITO, H. Regulation of Renal Organic Ion Transporters in Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury and Uremia in Rats. **Pharm Res**, v. 25, p. 2526 – 2533, 2008.

MUNSHI, R.; JOHNSON, A.; SIEW, E. D.; IKIZLER, T. A.; WARE, L.B.; WURFEL, M.M. et al. MCP-1 gene activation marks acute kidney injury. **J Am Soc Nephrol.**, v. 22, p. 165 – 175, 2011.

NATH, K. A. Heme oxygenase-1: a provenance for cytoprotective pathways in the kidney and other tissues. **Kidney Int**, v. 70, p. 432 – 443, 2006.

NEHA, K.; HAIDER, M. R.; PATHAK, A.; YAR, M. S. Medicinal prospects of antioxidants: A review. **Eur J Med Chem**, v. 178, p. 687 – 704, 2019.

NEMATBAKHSH, M.; PEZESHKI, Z.; ESHRAGHI-JAZI, F.; ASHRAFI, F.; NASRI, H.;

TALEBI, A.; SAFARI, T.; HAGHIGHI, M.; MANSOURI, A. Vitamin E, Vitamin C, or Losartan Is Not Nephroprotectant against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Presence of Estrogen in Ovariectomized Rat Model. **Int J Nephrol.**, v. 2012, n. 284896, p. 1 – 10, 2012.

NIELSEN, R.; CHRISTENSEN, E. I. Proteinuria and events beyond the slit. **Pediatr Nephrol**, v. 25, p. 813 – 822, 2010.

NISAR, S.; FEINFELD, D. A. N-acetylcysteine as salvage therapy in cisplatin nephrotoxicity. **Ren Fail.**, v. 24, p. 529 – 533, 2002.

NOJIRI, T.; HOSODA, H.; KIMURA, T.; TOKUDOME, T.; MIURA, K.; TAKABATAKE, H.; MIYAZATO, M.; OKUMURA, M.; KANGAWA, K. Protective effects of ghrelin on cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. **Peptides**, v. 82, p. 85 – 91, 2016.

NOLIN, T. D.; HIMMELFARB, J. Mechanisms of drug-induced nephro-toxicity. **Handb. Exp. Pharmacol.**, v. 196, p. 111 – 130, 2010.

NONN, L.; DUONG, D.; PEEHL, D. M. Chemopreventive anti-inflammatory activities of curcumin and other phytochemicals mediated by MAP kinase phosphatase-5 in prostate cells. **Carcinogenesis**, v. 28, p. 1188 – 1196, 2007.

OEYEN, S.; VANDIJCK, D.; BENOIT, D.; DECRUYENAERE, J.; ANNEMANS, L.; HOSTE, E. Long-term outcome after acute kidney injury in critically-ill patients. **Acta Clin Belg**, v. 62, Suppl 2, p. 337 – 340, 2007.

OH, D. J. A long journey for acute kidney injury biomarkers. **Renal Failure**, v. 42, n. 1, p. 154 – 165, 2020.

OJHA, S.; VENKATARAMAN, B.; KURDI, A.; MAHGOUB, E.; SADEK, B.; RAJESH, M. Plant-Derived Agents for Counteracting Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. **Oxid Med Cell Longev.**, v. 2016, p. 1 – 47, 2016.

OLIVEIRA, M. G. B.; GUIMARÃES, A. G.; ARAÚJO, A. A. S.; QUINTANS, J. S. S.; SANTOS, M. R. V.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Cyclodextrins: improving the therapeutic response of analgesic drugs: a patente review. **Expert Opin. Ther. Patents**, v. 25, n. 8, 2015.

ONDANI, A. C., CARVALHO, GALVÃO, A. L. B. N-acetilcisteína – ação antioxidante e utilização na clínica de pequenos animais. **Archives of Veterinary Science**, v.16, n.2, p.18 – 25, 2011.

OPET, N. J.; LEVIN, R. E. Use of  $\beta$ -cyclodextrin and activated carbon for quantification of *Salmonella entericaser*. Enteritidis from ground beef by conventional PCR without enrichment. **Food Microb.**, v. 38, p. 75 – 79, 2014.

OSTERMANN, M. Epidemiology, Incidence, Risk Factors, and Outcomes of Acute Kidney Injury. **Core Concepts in Acute Kidney Injury**. 1 ed. Nova York: Springer, p. 3 –11, 2018.

OWENS, D. M.; KEYSE, S. M. Differential regulation of MAP kinase signalling by dual-specificity protein phosphatases. **Oncogene**, v. 26, p. 3203 – 3213, 2007.

PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. **Kidney Int**, v. 73, p. 994 – 1007, 2008.

PABLA, N.; MURPHY, R. F.; LIU K.; DONG, Z. The copper transporter Ctr1 contributes to cisplatin uptake by renal tubular cells during cisplatin nephrotoxicity. **Am J Physiol Renal Physiol**. v. 296, n. 3, p. 505 – 511, 2009.

PAZARELLA, M. A. Drug-induced acute kidney injury: diverse mechanisms of tubular injury. **Current Opinion in Critical Care**, v. 25, p. 550 – 557, 2019.

PERES, L. A.; CUNHA JÚNIOR, A. D. D. Acute nephrotoxicity of cisplatin: molecular mechanisms. **J Bras Nefrol.**, v. 35, n. 4, p. 332 – 340, 2013.

PERES, L. A. B.; CUNHA JÚNIOR, A. D. D.; SCHÄFER, A. J.; SILVA, A. L. D.; GASPAR, A. D.; SCARPARI, D. F.; ALVES, J. B. F.; NETO, R. G.; OLIVEIRA, T. F. T. D. Biomarcadores da injúria renal aguda. **J Bras Nefrol**, v. 35, ed. 3 p. 229 – 236, 2013.

PEZESHKI, Z.; NEMATBAKHSH, M.; MAZAHERI, S.; ESHRAGHI-JAZI, F.; TALEBI, A.; NASRI, H.; SAFARI, T.; MANSOURI, A.; ASHRAFI, F. Estrogen abolishes protective effect of erythropoietin against cisplatin-induced nephrotoxicity in ovariectomized rats. **ISRN Oncol**, v. 2012, p. 1 – 7, 2012.

PORTILLA, D.; DAI, G.; MCCLURE, T.; BATES, L.; KURTEN, R.; MEGYESI, J.; PRICE, P.; LI, S. Alterations of PPAR alpha and its coactivator PGC-1 in cisplatin-induced acute renal failure. **Kidney Int.**, v. 62, n. 4, p. 1208 – 1218, 2002.

QI, L.; LUO, Q.; ZHANG, Y.; JIA, F.; ZHAO, Y.; WANG, F. Advances in Toxicological Research of the Anticancer Drug Cisplatin. **Chem Res Toxicol.**, v. 32, n. 8, p. 1469 – 1486, 2019.

RAJAPAKSE, R. M. G.; DUNUWEERA, S. P. Discovery, Chemistry, Anticancer Action and Targeting of Cisplatin. **International Journal of Clinical Oncology and Cancer Research.**, v. 2, n. 3, p. 65 – 74, 2017.

RAMESH, G.; REEVES, W. B. Salicylate reduces cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor-alpha. **Kidney International**, v. 65, n. 2, p. 490 – 499, 2004.

RAMESH G.; REEVES, W. B. TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. **J Clin Invest**, v. 110, p. 835 – 842, 2002.

RAMESH, G.; REEVES, W. B. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. **Am J Physiol Renal Physiol.**, v. 285, p. 610 – 618, 2003.

RAVINDRAN, A.; SAWANT, K. V.; SARMIENTO, J.; NAVARRO, J.; RAJARATHNAM, K. Chemokine CXCL1 dimer is a potent agonist for the CXCR2 receptor. **J Biol Chem.**, v. 288, n. 17, p. 12244 – 12252, 2013.

REHMAN, R.; AKRAM, M.; AKHTAR, N.; JABEEN, Q.; SAEED, T.; SHAH, S. M. A.; AHMED, K.; SHAHEEN, G.; ASIF, H. M. *Zingiber officinale* Roscoe (pharmacological activity). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 3, p. 344 – 348, 2011.

RODRIGUES, F. A.; PRATA, M. M.; OLIVEIRA, I. C.; ALVES, N. T.; FREITAS, R. E.; MONTEIRO, H. S.; SILVA, J. A.; VIEIRA, P. C.; VIANA, D. A.; LIBÓRIO, A. B.; HAVT, A. Gingerol fraction from *Zingiber officinale* protects against gentamicin-induced nephrotoxicity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, p. 1872 – 1878, 2014.

RODRIGUES, F. A. P.; SANTOS, A. D. C.; MEDEIROS, P. H. Q. S.; PRATA, M. M. G.; SANTOS, T. C. S.; SILVA, J. A.; BRITO, G. A. C.; SANTOS, A. A.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, A. A. M.; HAVT, A. Gingerol suppresses sepsis-induced acute kidney injury by modulating methylsulfonylmethane and dimethylamine production. **Scientific Reports**, v. 8, n. 12154, 2018.

ROMAN, R. M.; WENDLAND, A. E.; POLANCZYK, C. A. Mieloperoxidase e Doença Arterial Coronariana: da Pesquisa à Prática Clínica. **Arq Bras Cardiol**, v. 91, n. 1, p. 12 – 19, 2007.



ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. **Nature**, v. 205, p. 698 – 699, 1965.

ROUFOGALIS, B. D. *Zingiber officinale* (ginger): a future outlook on its potential in prevention and treatment of diabetes and prediabetic states. **New J. Sci.**, v. 2014, p. 1 – 15, 2014.

RUGGIERO, A.; RIZZO, D.; TROMBATORE, G.; MAURIZI, P.; RICCARDI, R. The ability of mannitol to decrease cisplatin-induced nephrotoxicity in children: Real or not? **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 77, p. 19 – 26, 2016.

RYBAK, L. P.; MUKHERJEA, D.; RAMKUMAR, V. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Prevention. **Semin Hear.**, v. 40, n. 2, p. 197 – 204, 2019.

RYTER, S. W.; ALAM, J.; CHOI, A. M. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. **Physiol Rev.**, v. 86, p. 583 – 650, 2006.

SADZUKA, Y.; SHOJI, T.; TAKINO, Y. Mechanism of the increase in lipid peroxide induced by cisplatin in the kidneys of rats. **Toxicol Lett**, v. 62, p. 293 – 300, 1992.

SALES, G. T. M.; FORESTO, R. D. Drug-induced nephrotoxicity. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 66, supl. 1, p. 82 – 90, 2020. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010442302020001300082&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010442302020001300082&lng=en&nrm=iso)>. acesso em 01 Ago. 2020.

SAMPATH, C.; RASHID, M. R.; SANG, S.; AHMEDNA, M. Specific bioactive compounds in ginger and apple alleviate hyperglycemia in mice with high fat diet-induced obesity via Nrf2 mediated pathway. **Food Chem.**, v. 226, p. 79 – 88, 2017.

SANCHEZ-GONZALEZ, P. D.; LOPEZ-HERNANDEZ, F. J.; LOPEZ-NOVOA, J. M.; MORALES, A. I. An integrative view of the pathophysiological events leading to cisplatin nephrotoxicity. **Crit Rev Toxicol**, v. 41, p. 803 – 821, 2011a.

SANCHEZ-GONZALEZ, P. D.; LOPEZ-HERNANDEZ, F. J.; PEREZ-BARRIOCANAL, F.; MORALES, A. I.; Lopez-Novoa, J. M. Quercetin reduces cisplatin nephrotoxicity in rats without compromising its anti-tumour activity. **Nephrol Dial Transplant**, v. 26, p. 3484 – 3495, 2011b.

SANCHO-MARTÍNEZ, S. M.; PRIETO-GARCÍA, L.; PRIETO, M.; FUENTES-CALVO, I.; LÓPEZ-NOVOA, J. M.; MORALES, A. I.; MARTÍNEZ-SALGADO, C.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, F. J. N-acetylcysteine transforms necrosis into apoptosis and affords tailored protection from cisplatin cytotoxicity. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 349, p. 83 – 93, 2018.

SANCHO-MARTÍNEZ, S. M.; PRIETO-GARCÍA, L.; PRIETO, M.; LÓPEZ-NOVOA, J. M.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, F. J. Subcellular targets of cisplatin cytotoxicity: an integrated view. **Pharmacol Ther**, v. 136, p. 35 – 55, 2012.

SANTOS, L., TORRIANI, M. S., BARROS, E. **Medicamentos Na Prática Da Farmácia Clínica**. 1ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

SANTOS, N. A. G.; BEZERRA, C. S. C.; MARTINS, N. M.; CURTI, C.; BIANCHI, M. L. P.; 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, p. 145 – 155, 2007.

SANTOS, N. A. G.; CARVALHO, R. M. A.; MARTINS, N. M.; SANTOS, A. C. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. **Arch Toxicol.**, v. 86, n. 8, p. 1233 – 1250, 2012.

SANTOS, N. A. G.; CATÃO, C. S.; MARTINS, N. M.; BIANCHI, M. L. P.; 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, p. 495 – 504, 2007.

SANTOS, R. G. **Potencial nefroprotetor do 8-gingerol isolado do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente à toxicidade induzida por cisplatina**. 2019. 103 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SATO, H.; OGINO, M.; YAKUSHIJI, K.; SUZUKI, H.; SHIOKAWA, K-I.; KIKUCHI, H.; SETO, Y.; ONOUE, S. Ginger Extract-Loaded Solid Dispersion System with Enhanced Oral Absorption and Antihypothermic Action. **J. Agric. Food Chem.**, v. 65, p. 1365 – 1370, 2017.

SCHANZ, M.; HOFERER A, S. H. I. J.; ALSCHER, M. D.; KIMMEL, M. Urinary TIMP2·IGFBP7 for the prediction of platinum-induced acute renal injury. **Int J Nephrol Renovasc Dis.**, v. 10, p. 175 – 181, 2017.

SHARMA, B. K.; KLINZING, D. C.; RAMOS, J. D. Zingiber officinale Roscoe aqueous extract modulates Matrixmetalloproteinases and tissue inhibitors of Metalloproteinases expressions in Dengue virus-infected cells: implications for prevention of vascular permeability. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research August**, v. 14, n. 8, p. 1371 – 1381, 2015

SCHETZ, M.; DASTA, J.; GOLDSTEIN, S.; GOLPER, T. Drug-induced acute kidney injury. **Curr. Opin. Crit. Care.**, v. 11, p. 555 – 565, 2005.

SEMWAL, R. S.; SEMWAL, D. K.; COMBRINCK, S.; VILJOEN, A. M. Gingerols and shogaols: important nutraceutical principles from ginger. **Phytochemistry**, v. 117, p. 554 – 568, 2015.

SHAH, N.; DIZON, D. S. New-generation platinum agents for solid tumors. **Future Oncol.**, v. 5, n. 1, p. 33 – 42, 2009.

SHARFUDDIN, A. A.; MOLITORIS, B. A. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. **Nat Rev Nephrol**, v. 7, p. 189 – 200, 2011.

SHARP, C. N.; SISKIND, L. J. Developing better mouse models to study cisplatin-induced kidney injury. **Am. J. Physiol. Ren. Physiol.**, v. 313, n. 4, p. 835 – 841, 2017.

SHRIVASTAVA, S. The influence of gingerol treatment on aluminum toxicity in rats. **J Environ Pathol Toxicol Oncol**, v. 34, n. 1, p. 11 – 21, 2015.

SIAFACA, K. In oncology trends product markets – Part I. **Future Oncol.**, v. 5, p. 1045 – 1071, 1999.

SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. **Oncogene**, v. 22, p. 7265 – 7279, 2003.

SIGAL, L. H. Basic science for the clinician 33: interleukins of current clinical relevance—part I. **Journal of Clinical Rheumatology**, v. 10, n. 6, p. 353 – 359, 2004.

SILVA, J. A.; SAMPAIO, P. A. DULCEY, L. J. L.; COMINETTI, M. R.; RABELLO, M. M.; ROLIM, L. A. Preparation and characterization of [6]-gingerol/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion

complexes. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, n. 102103, disponível online, 2020.

SILVA, J. A. **Busca de Inibidores da Catepsina K em Plantas Medicinais Utilizadas no Tratamento de Doenças Osteoarticulares**. 2011. 157 f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

SINGH, R.; BHARTI, N.; MADAN, J.; HIREMATH, S. N. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 3, 171 – 183, 2010.

SINHA, V.; VENCE, L. M.; SALAHUDEEN, A. K. Urinary tubular protein-based biomarkers in the rodent model of cisplatin nephrotoxicity: a comparative analysis of serum creatinine, renal histology, and urinary KIM-1, NGAL, and NAG in the initiation, maintenance, and recovery phases of acute kidney injury. **J Investig Med.**, v. 61, n. 3, p. 564 – 568, 2013.

SRINIVASAN, K. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. **PharmaNutrition**, v. 5, n. 1, p. 18 – 28, 2017.

SLOCUM, J.L.; HEUNG, M.; PENNATHUR, S. Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine? **Transl Res**, v. 159, p. 277 – 289, 2012.

SMITH, C. R.; MOORE, R. D.; LIETMAN, P. S. Studies of risk factors for aminoglycoside nephrotoxicity. **Am J Kidney Dis**, v. 8, p. 308 – 313, 1986.

SRISAWAT, N.; KELLUM, J. A. The Role of Biomarkers in Acute Kidney Injury. **Crit Care Clin**, v. 36, p. 125 – 140, 2020.

STRASSER, A.; O'CONNOR, L.; DIXIT, V. M. Apoptosis signaling. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 69, p. 217 – 245, 2000.

STREGE, M. A.; HUANG, S.; RISLEY, D. S. Quantitative determination of beta-cyclodextrin in a powder insulin formulation for nasal delivery using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 42, p. 74 – 78, 2019.

SUSANTITAPHONG, P.; CRUZ, D. N.; CERDA, J. et al. World incidence of AKI: a meta-analysis. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 8, p. 1482 – 1493, 2013.

SZENTE, L.; SZEJTLI, J. Cyclodextrins as food ingredients. **Trends Food Sci Technol**, v. 15, p. 137 – 142, 2013.

SZETJLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chem. Rev.**, v. 98, p. 1743 – 1753, 1998.

TAO, F.; HILL, L. E.; PENG, Y.; GOMES, C. L. Synthesis and characterization of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. **LWT – Food Sci Technol**, v. 59, p. 247 – 255, 2014.

TAS, N.; ALTINBAS, A.; NOYAN, T.; KOKTURK, S.; AYHAN, S.; CANAKCI, E. Acute acetaminophene-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity; therapeutic effect of dexmedetomidine. **Bratisl Lek Listy**, v. 120, n. 4, p. 270 – 276, 2019.

TEO, S. H.; ENDRE, Z. H. Biomarkers in acute kidney injury (AKI). **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 31, p. 331 – 344, 2017.

THAKAR, C. V.; LIANGOS, O.; YARED, J. P.; NELSON, D.; PIEDMONTE, M. R.; HARIACHAR, S.; PAGANINI, E. P. ARF after open-heart surgery: Influence of gender and race. **Am J Kidney Dis**, v. 41, p. 742 – 751, 2003.

TIMMEREN, M. M. V.; VAN DEN HEUVEL, M. C.; BAILLY, V.; BAKKER, S. J.; VAN GOOR, H.; STEGEMAN, C. A. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. **J Pathol.**, v. 212, n. 2, p. 209 – 217, 2007.

TJENDRAPUTRA, E.; TRAN, V. H.; LIU-BRENNAN, D.; ROUFOGALIS, B. D.; DUKE, C. C. Effect of ginger constituents and synthetic analogues on cyclooxygenase-2 enzyme in intact cells. **Bioorganic Chemistry**, v. 29, p. 156 – 163, 2001.

TOWNSEND, D. M.; DENG, M.; ZHANG, L.; LAPUS, M. G.; HANIGAN, M. H. Metabolism of cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 14, p. 1 – 10, 2003.

TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D.; HE, L.; KING, J. B.; HANIGAN, M. H. Role of glutathione S-transferase Pi in cisplatin-induced nephrotoxicity. **Biomed. Pharmacother.**, v. 63, p. 79 – 85, 2009.

TRIPATHI, S.; MAIER, K. G.; BRUCH, D.; KITTUR, D. S. Effect of 6-gingerol on proinflammatory cytokine production and costimulatory molecule expression in murine peritoneal macrophages. **Journal of Surgical Research**, v. 138, p. 209 – 213, 2007.

TSANG, R. Y.; AL-FAYEA, T.; AU, H. J. Cisplatin overdose: toxicities and management. **Drug Saf.**, v. 32, n. 12, p. 1109 – 1122, 2009.

TURRENS, J. F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. **J Physiol**, v. 552, p. 335 – 344, 2003.

UCHINO, S.; KELLUM, J. A.; BELLOMO, R.; DOIG, G. S.; MORIMATSU, H.; MORGERA, S.; et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. **JAMA**, v. 294, p. 813 – 818, 2005.

ÜLGER, F.; PEHLIVANLAR KÜÇÜK, M.; KÜÇÜK, A. O.; LKAYA, N. K.; MURAT, N.; BILGIÇ, B.; ABANOZ, H. Evaluation of acute kidney injury (AKI) with RIFLE, AKIN, CK, and KDIGO in critically ill trauma patients. **Eur J Trauma Emerg Surg**, v. 44, p. 597 – 605, 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE. QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ARAÚJO, A. A. S.; BLANK, A. F.; SANTANA, J. M.; SERAFINI, M. R.; MENEZES, P. P.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BONJARDIM, L. R.; JUNIOR, R. L. C. A.; ALVES, P. B.; JUNIOR, W. L.; COSTA, A. S. **Método de obtenção de complexos de inclusão de *Ocimum basilicum*, complexos de inclusão obtidos e seu uso no tratamento de dor.** BR2020130256773; 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE. QUINTANS-JÚNIOR, L. J., et al. **Complexos de inclusão contendo óleo essencial de *Lippia grata* e b-ciclodextrina para o tratamento de dor e inflamação e método de obtenção dos mesmo.** BR1020130256781; 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE. QUINTANS-JÚNIOR, L. J., et al. **Métodos de obtenção de complexos de inclusão de linalol, complexos de inclusão obtidos e seu uso no tratamento de dor.** BR1020130300268; 2013.

VILLIERS, A. Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. **Compt. Rend. Acad. Sci.**, v. 112, p. 536 – 538, 1891.

VINKEN, P.; STARCKX, S.; BARALE-THOMAS, E.; LOOSZOVA, A.; SONEE, M.; GOEMINNE, N.; VERSMISSEN, L.; BUYENS, K.; LAMPO, A. Tissue Kim-1 and urinary

clusterin as early indicators of cisplatin-induced acute kidney injury in rats. **Toxicol Pathol.**, v. 40, n. 7, p. 1049 – 1062, 2012.

VOLAREVIC, V.; DJOKOVIC, B.; JANKOVIC, M. G.; HARRELL, C. R.; FELLABAUM, C.; DJONOV, V.; ARSENIJEVIC, N. Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity: a balance on the knife edge between renoprotection and tumor toxicity. **Journal of biomedical science**, v. 26, n. 1, 25, 2019.

WAIKAR, S. S.; BONVENTRE, J. V. Creatinine Kinetics and the Definition of Acute Kidney Injury. **J Am Soc Nephrol**, v. 20, p. 672 – 679, 2009.

WAINFORD, R. D.; WEAVER, R. J.; STEWART, K. N.; BROWN, P.; HAWKSWORTH, G. M. Cisplatin nephrotoxicity is mediated by  $\gamma$  glutamyl transpeptidase, not via a C-S lyase governed biotransformation pathway. **Toxicology**, v. 249, p. 184 – 193, 2008.

WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nat. Rev. Drug Discovery**, v. 4, p. 307 – 320, 2005.

WANG, H. W.; YANG, W.; LU, J. Y.; LI, F.; SUN, J. Z.; ZHANG, W.; GUO, N. N.; GAO, L.; KANG, J. R. N-acetylcysteine administration is associated with reduced activation of NF- $\kappa$ B and preserves lung dendritic cells function in a zymosan-induced generalized inflammation model. **J Clin Immunol.**, v. 33, n. 3, p. 649 – 660, 2013.

WANG, Q.; WEI, Q.; YANG, Q.; CAO, X.; LI, Q.; SHI, F.; TONG, S.S.; FENG, C.; YU, Q.; YU, J.; XU, X. A novel formulation of [6]-gingerol: proliposomes with enhanced oral bioavailability and antitumor effect. **Int. J. Pharm.**, v. 535, p. 308 – 315, 2018.

WANG, S.; YANG, G.; JIANG, L.; ZHANG, C.; FEI, X.; GENG, C.; SUN, X.; YANG, Y. 6-Gingerol Attenuates Hydrogen Peroxide-induced DNA Damage in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. **Food Science and Technology Research**, v. 20, n. 5, p. 947 – 954, 2014.

WEI, Q. Y.; MA, J. P.; CAI, Y. J.; YANG, L.; LIU, Z. L. Cytotoxic and apoptotic activities of diarylheptanoids and gingerol-related compounds from the rhizome of Chinese ginger. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 177 – 184, 2005.

WEISS, S. J. Tissue destruction by neutrophils. **N. Engl. J. Med.**, v. 320, p. 365 – 376, 1989.

WHEATE, N. J.; WALKER, S.; CRAIG, G. E.; OUN, R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Trans.**, v. 39, p. 8113 – 8127, 2010.

WHITE, B. Ginger: an overview. **Am Fam Physician.**, v. 75, n. 11, p. 1689 – 1691, 2007.

WIEDERMANN, C. J.; WIEDERMANN, W.; JOANNIDIS, M. Hypoalbuminemia and acute kidney injury: a meta-analysis of observational clinical studies. **Intensive Care Med**, v. 36, p. 1657 – 1665, 2010.

WILTSHAW, E. Cisplatin in the treatment of cancer, **Platinum Metals Rev.**, v. 23, n. 3, p. 90 – 98, 1979.

WU, C. T.; SHEU, M. L.; TSAI, K. S.; CHIANG, C. K.; LIU, S. H. Salubrinal, an eIF2 $\alpha$  dephosphorylation inhibitor, enhances cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in a mouse model. **Free Radic Biol Med.**, v. 51, n. 3, p. 671 – 680, 2011.

WYATT, C. M.; MALVESTUTTO, C.; COCA, S. G.; KLOTMAN, P. E.; PARIKH, C. R. The impact of hepatitis C virus coinfection on HIV-related kidney disease: a systematic review and meta-analysis. **AIDS**, v. 22, p. 1799 – 1807, 2008.

YAGIHASHI, S.; MIURA, Y.; YAGASAKI, K. Inhibitory effect of gingerol on the proliferation and invasion of hepatoma cells in culture. **Cytotechnology**, v. 57, p. 129 – 136, 2008.

YAMABE, N.; KANG, K. S.; GOTO, E.; TANAKA T.; YOKOZAWA, T. Beneficial Effect of Corni Fructus, a Constituent of Hachimi-jio-gan, on Advanced Glycation End-product Mediated Renal Injury in Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 30, p.520 – 526, 2007.

YAMANOBE, T.; OKADA, F.; IUUCHI, Y.; ONUMA, K.; TOMITA, Y.; FUJII, J. Deterioration of ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in SOD1-deficient mice. **Free Radic Res.**, v. 41, n. 2, p. 200 – 207, 2007.

YANG, G.; ZHONG, L.; JIANG, L.; GENG, C.; CAO, J.; SUN, X.; LIU, X.; CHEN, M.; MA, Y. 6-Gingerol prevents patulin-induced genotoxicity in HepG2 cells. **Phytotherapy Research**, v. 25, p. 1480 – 1485, 2011.



YAO, X.; PANICHPISAL, K.; KURTZMAN, N.; NUGENT, K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. **Am J Med Sci**, v. 334, p. 115 – 124, 2007.

YEH, H.; CHUANG, C.; CHEN, H.; WAN, H.; CHEN, T.; LIN, L. Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. **LWT Food Sci. Technol.**, v. 55, p. 329 – 334, 2014.

ZAGER, R. A. Pathogenetic mechanisms in nephrotoxic acute renal failure. **Semin. Nephrol.**, v. 17, p. 3 – 14, 1997.

ZAHOOR, A.; YANG, C.; YANG, Y.; GUO, Y.; ZHANG, T.; JIANG, K.; GUO, S.; DENG, G. 6-Gingerol exerts anti-inflammatory effects and protective properties on LTA-induced mastitis. **Phytomedicine**, v. 76, n. 153248, 2020.

ZENG, G. F.; ZHANG, Z. A.; LU, L.; XIAO, D. Q.; ZONG, S. H.; HE, J. M. Protective effects of ginger root extract on Alzheimer's disease-induced behavioural dysfunction in rats. **Rejuvenation Research**, v. 16, n. 2, p. 124 – 133, 2013.

ZHANG, B.; RAMESH, G.; UEMATSU, S.; AKIRA, S.; REEVES, W. B. TLR4 signaling mediates inflammation and tissue injury in nephrotoxicity. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 19, p. 923 – 932, 2008.

ZHANG, D.; PAN, X.; WANG, S.; ZHAI, Y.; GUAN, J.; QIANG, F.; HAO, X.; QI, W.; WANG, Y.; LIAN, H.; LIU, X.; WANG, Y.; SUN, Y.; HE, Z.; SUN, J. Multifunctional poly (methyl vinyl ether-co-maleic anhydride)-graft-hydroxypropyl- $\beta$ -CD amphiphilic copolymer as an oral high-performance delivery carrier of tacrolimus. **Molecular Pharma**, v. 12, n. 7, p. 2337 – 2351, 2015.

ZHANG, F.; MA, N.; GAO, Y. F.; SUN, L. L.; ZHANG, J. G. Therapeutic Effects of 6-Gingerol, 8-Gingerol, and 10-Gingerol on Dextran Sulfate Sodium-Induced Acute Ulcerative Colitis in Rats. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 9, p. 1427 – 1432, 2017.

ZHANG, J., MA, P. X. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 65, 1215–1233, 2013.

ZHANG, L.; HANIGAN, M. H. Role of cysteine S-conjugate  $\beta$ -lyase in the metabolism of cisplatin. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 306, p. 988 – 994, 2003.

ZHANG, L.; ZHU, Z.; LIU, J.; ZHU, Z.; HU, Z. Protective effect of N-acetylcysteine (NAC) on renal ischemia/reperfusion injury through Nrf2 signaling pathway. **J Recept Signal Transduct Res**, v. 34, p. 396 – 400, 2014.

ZHAO, Y.; DAI, W. Effect of phloretin treatment ameliorated the cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in experimental rats. **Phcog Mag**, v. 16, p. 207 – 213, 2020.

ZICK, S. M.; DJURIC, Z.; RUFFIN, M. T.; LITZINGER, A. J.; NORMOLLE, D. P.; ALRAWI, S.; FENG, M. R.; BRENNER, D. E. Pharmacokinetics of 6-, 8-, 10-gingerols and 6-shogaol and conjugate metabolites in healthy human subjects. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent.**, v. 17, p. 1930 – 1936, 2008.

ZMITEK, J.; VERHNJAK, K.; FERCEJ-TEMELJOTOV, D.; LEK, T. F.; LAVRIC, A.; KOVACIC, M.; BOLE, V. B. **Inclusion complexes of racemic ibuproxam and of optically active ibuproxam with cyclodextrin derivatives, process for the preparation thereof, pharmaceutical preparations containing these inclusion complexes or containing optically actives-(+)-ibuproxam, and use thereof.** WO95/07076, 16 mar 1995.

ZOJA, C.; BENIGNI, A; REMUZZI, G. The Nrf2 pathway in the progression of renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 29, p. 19 – 24, 2014.