



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

RAFAELA GOMES SANTOS

POTENCIAL NEFROPROTETOR DO 8-GINGEROL ISOLADO DO GENGIBRE
(*Zingiber officinale* Roscoe) FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA

FORTALEZA-CE

2019

RAFAELA GOMES SANTOS

**POTENCIAL NEFROPROTETOR DO 8-GINGEROL ISOLADO DO GENGIBRE
(*Zingiber officinale* Roscoe) FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá

FORTALEZA-CE

2019

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)

- S1p SANTOS, RAFAELA.
POTENCIAL NEFROPROTETOR DO 8-GINGEROL ISOLADO DO GENGIBRE (*Zingiber officinale* Roscoe) FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA / RAFAELA SANTOS. – 2019.
102 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de PósGraduação em Farmacologia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá.
1. cisplatina. 2. estresse oxidativo. 3. injúria renal aguda. 4. 8-gingerol. I. Título.
- 615.1
- CDD
-

RAFAELA GOMES SANTOS

**POTENCIAL NEFROPROTETOR DO 8-GINGEROL ISOLADO DO GENGIBRE
(*Zingiber officinale* Roscoe) FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^ª. Dr^ª. Tainá Veras de Sandes Freitas (UFC)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Advane de Paulo Rodrigues
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

AGRADECIMENTOS

Gratidão a **Deus** pela vida e pela grandiosa oportunidade de aprender cada vez mais.

Aos meus queridos pais, **Claudia e Gildo**, por todo o amor e incentivo.

Ao meu amigo e companheiro **Breno**.

Ao **professor Alexandre** e a todos os meus amigos do LTM: **Adelvane, Cleber, Mikael, Kligem, João Vitor, Thiago, Dayara, Maria e a todos do LDI**.

Ao **professor James** pelo 8-gingerol gentilmente cedido.

Ao **professor Mário** pela análise histopatológica.

Aos meus amigos do LACT, **Ederson, Alisson, Mateus e Duaran** pelas preciosas horas de ajuda e orientação durante as análises bioquímicas.

Aos colegas **Iury, Lury e Gabi** do Laboratório de Produtos Naturais por gentilmente disponibilizar os equipamentos necessários.

Ao incentivo financeiro do **CNPq**.

Á todos, que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização do presente trabalho.

Por fim, como gratidão, desejo a todos as mais maravilhosas bênçãos de Deus!

“Conhecer é patrocinar a libertação de nós mesmos,
colocando-nos a caminho de novos horizontes na vida.”

Emmanuel

RESUMO

A cisplatina (CIS) é um quimioterápico potencialmente nefrotóxico. Apesar das estratégias preventivas, é capaz de provocar injúria renal aguda (IRA) em 20-30% dos pacientes. A IRA, principal efeito colateral e fator limitante da terapia com a droga, é desencadeada por dano oxidativo, inflamação e apoptose das células tubulares renais. O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é uma fonte promissora de substâncias de uso terapêutico. Os gingeróis isolados do gengibre detêm propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias com possível potencial nefroprotetor. O presente estudo buscou investigar os efeitos do 8-gingerol (8-G) na IRA induzida por CIS. Inicialmente foi feita uma curva dose-resposta (5, 12, 20 e 25 mg/kg i.p.) para definir a dose de CIS capaz de provocar IRA. Em termos de nefrotoxicidade, os resultados foram semelhantes para as doses de 20 e 25 mg/kg. Portanto, optou-se pela menor delas. Para o segundo bloco experimental, que consistiu no tratamento da IRA com o composto 8-G, dividimos os animais em 5 grupos (n=6-8): controle, CIS, NAC (N-acetilcisteína) 120 mg/kg (controle positivo), 8-G 25 mg/kg e 8-G 50 mg/kg. As drogas de tratamento foram administradas por via i.p. durante 5 dias e no 3º dia, 1h após o último tratamento, foi feita a administração de CIS. Ao final dos 5 dias de experimento os animais foram eutanasiados. A CIS alterou todos os parâmetros investigados em relação ao grupo tratado com salina: creatinina sérica ($1,3 \pm 0,26$ vs $0,28 \pm 0,014$ mg/dL), ureia sérica ($198,0 \pm 23,2$ vs $36,4 \pm 3,8$ mg/dL), *clearance* de creatinina ($0,9 \pm 0,21$ vs $3,12 \pm 0,31$ ml/min/kg), Gama GT urinária ($4,86 \pm 0,30$ vs $0,58 \pm 0,21$ U/mg de creatinina), albumina urinária ($0,05 \pm 0,008$ vs $0,0048 \pm 0,0009$ mg/24h), proteína urinária ($2,6 \pm 0,24$ vs $1,26 \pm 0,16$ mg/24h), GSH renal ($108,1 \pm 9,3$ vs $244,6 \pm 13,17$ µg de GSH/mg de tecido), MDA urinário ($54,95 \pm 3,6$ vs $35,03 \pm 2,7$ nmol/mg de creatinina), MPO renal ($8,11 \pm 1,27$ vs $4,0 \pm 0,6$ UMPO/mg de tecido), a expressão gênica de GsR ($0,44 \pm 0,11$ vs $1,27 \pm 0,21$), de KIM-1 ($2,38 \pm 0,31$ vs $0,98 \pm 0,11$), de NGAL ($9,89 \pm 2,09$ vs $1,092 \pm 0,41$) e de IL-1β ($4,39 \pm 1,20$ vs $1,09 \pm 0,30$) além da histologia renal, reproduzindo assim IRA nos animais. O tratamento com 8-G na dose de 25 mg/kg não foi capaz de reduzir a nefrotoxicidade. No entanto, a de 50 mg/kg atenuou a maioria dos parâmetros aqui avaliados: creatinina sérica ($0,6 \pm 0,10$ mg/dL), ureia sérica ($105,3 \pm 19,7$ mg/dL), *clearance* de creatinina ($1,72 \pm 0,3$ ml/min/kg), gama GT urinária ($3,10 \pm 0,89$ U/mg de creatinina), albumina urinária ($0,03 \pm 0,007$ mg/24h), proteína urinária ($2,05 \pm 0,23$ mg/24h), GSH renal ($162,2 \pm 19,0$ µg de GSH/mg de tecido), MDA urinário ($45,7 \pm 1,4$ nmol/mg de creatinina), MPO renal ($4,61 \pm 0,43$ UMPO/mg de tecido), a expressão gênica de GsR ($0,93 \pm 0,18$) e IL-1β ($1,43 \pm 0,11$). O tratamento com NAC melhorou o dano de forma mais acentuada ao aumentar significativamente as concentrações renais de GSH ($197,3 \pm 10,44$ µg de GSH/mg de tecido) e a expressão gênica de GsR ($9,95 \pm 1,3$), reduzir a creatinina plasmática ($0,5 \pm 0,08$ mg/dL), a atividade de MPO renal ($3,07 \pm 0,32$ UMPO/mg de tecido), a expressão de KIM-1 ($1,47 \pm 0,16$) e as alterações histopatológicas. O presente estudo conseguiu reproduzir o modelo de IRA induzido por CIS e confirmar a ação nefroprotetora de NAC nesse modelo. O 8-G por sua vez, na maior dose empregada, também forneceu proteção, porém de forma menos significativa que NAC. Concluimos, portanto, que o 8-G, na dose aqui empregada, também possui efeito protetor podendo servir como adjuvante na prevenção da nefrotoxicidade na IRA induzida por CIS.

Palavras-chaves: cisplatina, estresse oxidativo, injúria renal aguda, 8-gingerol

ABSTRACT

NEPHROPROTECTIVE POTENTIAL OF 8-GINGEROL ISOLATED FROM GINGER (*Zingiber officinale* Roscoe) AGAINST CISPLATIN TOXICITY

Cisplatin (CIS) is a chemotherapeutic agent potentially nephrotoxic. Despite preventive strategies, it is capable of causing acute kidney injury (AKI) in 20-30% of patients. AKI, the major side effect and limiting factor of cisplatin therapy, is triggered by oxidative damage, inflammation and apoptosis of renal tubular cells. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is a promising source of therapeutic substances. Gingerols isolated from ginger have antioxidant and anti-inflammatory properties with possible nephroprotective potential. The present study sought to investigate the effects of 8-gingerol (8-G) on CIS-induced AKI. First, a dose response curve (5, 12, 20, and 25 mg/kg i.p.) was made to define the dose of CIS able of causing AKI. In terms of nephrotoxicity, the results were similar for the doses of 20 and 25 mg/kg. Then, we chose the lowest of them. For the second block of experiments, which consisted of the treatment of AKI with the compound 8-G, the animals were divided into 5 groups (n=6-8): control, CIS, NAC (N-acetylcysteine) 120 mg/kg (positive control), 8-G 25 mg/kg and 8-G 50 mg/kg. All tested substances were administered i.p. for 5 days and on the day 3, 1h after the last treatment, CIS was administered. At the end of the 5 days' experiment, the animals were euthanized. CIS altered all parameters investigated in comparison to the saline treated group: serum creatinine (1.3 ± 0.26 vs 0.28 ± 0.014 mg/dL), serum urea (198.0 ± 23.2 vs 36.4 ± 3.8 mg/dL), creatinine clearance (0.9 ± 0.21 vs 3.12 ± 0.31 ml/min/kg), urinary gamma GT (4.86 ± 0.30 vs 0.58 ± 0.21 U/mg creatinine), urinary albumin (0.05 ± 0.008 vs 0.0048 ± 0.0009 mg/24h), urinary protein (2.6 ± 0.24 vs 1.26 ± 0.16 mg/24h), renal GSH (108.1 ± 9.3 vs 244.6 ± 13.17 μ g GSH/mg tissue), urinary MDA (54.95 ± 3.6 vs 35.03 ± 2.7 nmol/mg creatinine), renal MPO (8.11 ± 1.27 vs 4.0 ± 0.6 UMPO/mg tissue), GsR gene expression (0.44 ± 0.11 vs 1.27 ± 0.21), KIM-1 (2.38 ± 0.31 vs 0.98 ± 0.11), NGAL (9.89 ± 2.09 vs 1.092 ± 0.41) and IL-1 β (4.39 ± 1.20 vs 1.09 ± 0.30) in addition to renal histology, thus reproducing AKI in the animals. Treatment with 8-G at a dose of 25 mg/kg was not able to reduce nephrotoxicity. However, the doses of 50 mg/kg attenuated most of the parameters measured here: serum creatinine (0.6 ± 0.10 mg/dL), serum urea (105.3 ± 19.7 mg/dL), creatinine clearance (1.72 ± 0.3 ml/min/kg), urinary gamma GT (3.10 ± 0.89 U/mg creatinine), urinary albumin (0.03 ± 0.007 mg/24h), urinary protein (2.05 ± 0.23 mg/24h), renal GSH (162.2 ± 19.0 μ g GSH/mg tissue), urinary MDA (45.7 ± 1.4 nmol / mg creatinine), renal MPO (4.61 ± 0.43 UMPO/mg tissue), the gene expression of GsR (0.93 ± 0.18) and IL-1 β (0.5 ± 0.08 mg/dL). NAC treatment significantly improved damage by significantly increasing renal GSH concentrations (197.3 ± 10.44 μ g GSH/mg tissue) and GsR gene expression (9.95 ± 1.3), reduce plasma creatinine (0.5 ± 0.08 mg/dL) and renal MPO activity (3.07 ± 0.32 UMPO/mg tissue), KIM-1 expression (1.47 ± 0.16) and histopathological changes. The present study was able to reproduce the CIS-induced AKI model and confirm the nephroprotective action of NAC in this model. 8-G in turn, at the highest dose employed, also provided protection, but less significantly than NAC. Therefore, we conclude that 8-G in the dose used here also has a protective effect and may serve as an adjuvant in preventing CIS-induced nephrotoxicity in ARF.

Keywords: cisplatin, oxidative stress, acute renal injury, 8-gingerol

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIF** - Fator indutor de apoptose
- AINEs** - Anti-inflamatórios não esteroidais
- AKIN** - *Acute Kidney Injuries Network*
- AUC** - *Area Under The Curve*
- Bcl-2** - Proteína 2 do linfoma de células B
- CAT** - Catalase
- CDDP** - cis-diaminodicloroplatina
- CIS** - Cisplatina
- C_{máx}** - Concentração máxima
- COX-2** - Ciclo oxigenase 2
- CTR1** - Transportador de cobre humano do tipo 1
- DAMPs** – Padrões Moleculares Associados a Danos
- DL₅₀** - Dose letal 50%
- DRC** - Doença renal crônica
- ERK** - Cinase regulada por sinal extracelular
- EROs** - Espécies reativas de oxigênio
- FDA** - *Food and Drug Administration*
- GAPDH** - Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase
- Gama-GT** - Gama glutamil transferase
- GPx** - Glutathione peroxidase
- GSH** - Glutathione reduzida
- GsR** - Glutathione redutase
- ICAM-1** - Molécula de Adesão Intercelular 1
- IL-1 β** - Interleucina 1 beta
- IL-4** - Interleucina 4
- IL-6** - Interleucina 6
- iNOS** - Óxido nítrico sintase induzida
- IRA** - Injúria renal aguda
- JNK** - c-JUN quinase N-terminal
- KDIGO** - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*
- KIM-1** – Molécula de Injúria Renal 1
- L-FABP** - Proteína hepática de ligação de ácidos graxos

LPS - Lipopolissacarídeo

MAPK - Proteína quinase ativada por mitógeno

MCP-1 - Peptídeo-1 quimiotático para monócitos

MDA - Malondialdeído

MPO – Mieloperoxidase

MSM - Metilsulfonilmetano

NAC - N-acetilcisteína

NAG - N-Acetil- β -d-glucosaminidase

NF κ B - Factor nuclear kappa B

NGAL - Lipocaína associada a gelatinase neutrofílica

NO - Óxido nítrico

Nrf2 - Fator eritróide nuclear relacionado ao fator 2

OCT2 - Transportador de cátion orgânico do tipo 2

PPAR α - Receptor de proliferação de peroxissomo α

RIFLE - *Risk, injury, failure, loss, end stage*

SOD - Superóxido dismutase

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TFG - Taxa de filtração glomerular

TGF- β - fator de crescimento transformador beta

TLRs - Receptores *Toll Like*

T m áx - Tempo necessário para alcançar o C m áx

TNFR1 - Receptor de TNF tipo 1

TNFR2 - Receptor de TNF tipo 2

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

TSR - Terapia de substituição renal

VCAM-1 - Molécula de adesão celular vascular 1

8-G - 8-gingerol

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura, transporte e hidrólise da molécula de cisplatina.....	21
FIGURA 2. Resumo das principais vias lesão celular induzida pela cisplatina.....	23
FIGURA 3. Vista geral da planta e do rizoma de <i>Zingiber officinale</i> Roscae.....	27
FIGURA 4. Estrutura química dos gingeróis e sua desidratação aos shogaois correspondentes.....	28
FIGURA 5. Desenho experimental, grupo controle e cisplatina curva dose-resposta.....	35
FIGURA 6. Desenho experimental, grupo controle (salina) e IRA (CIS 20mg/kg).....	36
FIGURA 7. Desenho experimental, grupos de tratamento (8-G 25 ou 50 mg/kg ou NAC 120 mg/kg i.p.)	36
FIGURA 8. Avaliação dos níveis séricos de creatinina na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.....	43
FIGURA 9. Avaliação dos níveis séricos de ureia na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.....	44
FIGURA 10. Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.....	45
FIGURA 11. Avaliação da atividade de mieloperoxidase (MPO) em tecido renal na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.....	46
FIGURA 12. Imagens representativas das alterações histológicas dos tecidos renais dos camundongos que receberam cisplatina nas doses 5, 12, 20 e 25 mg/kg i.p e do grupo controle, processadas pela técnica hematoxilina-eosina (HE).....	48
FIGURA 13. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nos níveis séricos de creatinina na IRA induzida por cisplatina.....	49
FIGURA 14. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nos níveis séricos de ureia na IRA induzida por cisplatina.....	50
FIGURA 15. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na Taxa de Filtração Glomerular na IRA induzida por cisplatina.....	51
FIGURA 16. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de Gama glutamil transferase (Gama-GT) na IRA induzida por cisplatina.....	52
FIGURA 17. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de albumina na IRA induzida por cisplatina.....	53
FIGURA 18. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de proteína na IRA induzida por cisplatina.....	54

FIGURA 19. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nos níveis de glutathiona reduzida (GSH) na IRA induzida por cisplatina.....	55
FIGURA 20. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de malondialdeído (MDA) na IRA induzida por cisplatina.....	56
FIGURA 21. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na atividade de mieloperoxidase (MPO) na IRA induzida por cisplatina.....	57
FIGURA 22. Imagens representativas das alterações histológicas dos tecidos renais dos camundongos tratados com cisplatina, 8-gingerol e N-acetilcisteína.....	60
FIGURA 23. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de GsR na IRA induzida por cisplatina.....	62
FIGURA 24. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de KIM-1 na IRA induzida por cisplatina.....	63
FIGURA 25. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de NGAL na IRA induzida por cisplatina.....	64
FIGURA 26. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de IL-1 β na IRA induzida por cisplatina.....	65

LISTA DE TABELA

TABELA 1. Diagnóstico e estadiamento de IRA dos critérios RIFLE, AKIN, KDIGO...	16
TABELA 2. Sequência de iniciadores e condições de PCR para os genes avaliados (S: senso e AS: antisenso.....)	41
TABELA 3. Análise microscópica dos grupos tratados com 8-gingerol (25 e 50mg/kg) N-acetilcisteína 120 mg/kg (NAC) na nefrotoxicidade induzida por cisplatina (CIS).....	59
TABELA 4. Resumo dos resultados encontrados.....	80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Injúria renal aguda: aspectos epidemiológicos e fisiopatologia	14
1.2 Nefrotoxicidade Induzida por Fármacos	17
1.3 Cisplatina	19
1.3.1 <i>Nefrotoxicidade induzida por cisplatina e condutas clínicas</i>	19
1.3.2 <i>Mecanismos de nefrotoxicidade por cisplatina</i>	22
1.4 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe e Gíngerois	26
2. JUSTIFICATIVA	31
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivos gerais	32
3.2 Objetivos específicos	32
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Animais e Comitê de Ética	33
4.2 Compostos e Substâncias Utilizadas	33
4.2.1 <i>Preparação dos Compostos</i>	33
4.3 Grupos Experimentais	33
4.3.1 <i>Curva dose-resposta de cisplatina</i>	34
4.3.2 <i>Protocolo Experimental de Tratamento</i>	34
4.4 Desenho Experimental	35
4.4.1 <i>Curva dose-resposta</i>	35
4.4.2 <i>Tratamento</i>	35
4.5 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos	37
4.6 Cálculo do <i>Clearance</i> de Creatinina	37
4.7 Avaliação do Dano Tubular: Gama-GT urinária	37
4.8 Avaliação da Inflamação	38
4.8.1 <i>Atividade de Mieloperoxidase (MPO)</i>	38
4.9 Avaliação do dano oxidativo	38
4.9.1 <i>Dosagem de Malondialdeído (MDA) urinário</i>	38
4.10 Avaliação da Atividade Antioxidante	38
4.10.1 <i>Níveis de Glutathione Reduzida (GSH)</i>	39
4.11 Análise Histopatológica	39
4.12 Avaliação de Marcadores por PCR Quantitativo em Tempo Real	40
4.12.1 <i>Extração do RNA total</i>	40

4.12.2 Síntese de cDNA	40
4.12.3 PCR quantitativo em tempo real (qPCR)	41
4.13 Análise Estatística	42
5. RESULTADOS	43
5.1 Curva dose-resposta de Cisplatina	43
5.1.1 Determinação de parâmetros bioquímicos plasmáticos	43
5.1.2 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) no tecido renal	45
5.1.3 Determinação da atividade de mieloperoxidase (MPO) no tecido renal	46
5.1.4 Avaliação histopatológica do tecido renal	47
5.2 Tratamentos com 8-gingerol e N-acetilcisteína	49
5.2.1 Análise da função renal	49
5.2.2 Análise do dano tubular	52
5.2.3 Análise de albuminúria e proteinúria	53
5.2.4 Avaliação do dano oxidativo	55
5.2.5 Avaliação da inflamação	57
5.2.6 Avaliação histopatológica do tecido renal	58
5.2.7 Avaliação da expressão gênica de GsR, KIM-1, NGAL e IL-1 β	61
6. DISCUSSÃO	66
7. CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83

1. INTRODUÇÃO

1.1 Injúria renal aguda: aspectos epidemiológicos e fisiopatologia

A injúria renal aguda (IRA) consiste em qualquer comprometimento abrupto da função e estrutura renal, que ocorre ao longo de horas ou dias (METHA et al., 2007; EDELSTEIN, 2012). Independente do mecanismo envolvido, é caracterizada pela perda rápida da função excretora renal. Geralmente é diagnosticada pelo acúmulo de produtos do metabolismo do nitrogênio (ureia e creatinina), acompanhada ou não da diminuição da diurese além de distúrbios no controle do equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-base (BELLOMO et al., 2012; COSTA et al., 2003). É uma preocupação de saúde global ligada ao desenvolvimento de doença renal crônica (DRC), infecções, insuficiência cardiovascular e outras disfunções orgânicas, sendo também um transtorno comum associado a alta mortalidade, morbidade e custos de saúde (RICCI et al., 2011; LEWINGTON et al., 2014; ZUK e BONVENTRE, 2016).

Em setembro de 2004 foi criada a *Acute Kidney Renal Injuries Network* (Rede de Injúria Renal Aguda), uma comunidade científica internacional cuja missão seria desenvolver pesquisas no diagnóstico, prevenção e tratamento da IRA (METHA et al., 2007). AKIN recomendou que o termo “Insuficiência Renal Aguda” fosse substituído por “Injúria Renal Aguda” pelo fato desse último ser mais amplo e incluir em sua definição os estágios de lesão que variam do dano mais precoce ao mais intenso. Essa nova denominação abrangeu as manifestações clínicas que vão desde um aumento mínimo de creatinina sérica até a insuficiência renal anúrica com necessidade de diálise (RICCI et al., 2011; DIRKES, 2016).

A IRA é encontrada tanto no ambiente hospitalar como na comunidade (LEWINGTON et al., 2014). Afeta até 20% dos pacientes hospitalizados e está associada a eventos extra renais como sepse e disfunção de múltiplos órgãos, o que leva a uma alta taxa de mortalidade (LEVI et al., 2013; HORNE et al., 2017). Cerca de 5% das admissões em UTI requerem terapia de reposição renal e mais da metade dos pacientes internados nessa unidade desenvolvem IRA (LEWINGTON et al., 2014; HOSTE et al., 2015). As principais causas no ambiente hospitalar são diminuição da perfusão renal, medicamentos nefrotóxicos e uso de meios de contraste radiológicos, sendo os pacientes idosos os mais atingidos. A incidência de IRA aumenta com a idade, sendo 3,5 vezes maior nos pacientes acima de 70 anos, o que se justifica pela perda progressiva dos nefrônios funcionantes com o envelhecimento (NUNES et al., 2010; NASH et al., 2002). Além disso, doenças cormórbidas como diabetes mellitus, hipertensão, insuficiência cardíaca, doença hepática crônica e doença pulmonar são importantes fatores de risco para o

desenvolvimento de IRA (REWA e BAGSHAW et al., 2014).

Pacientes que adquirem IRA na comunidade geralmente são mais jovens e saudáveis. Em países de baixa e média renda, especialmente em áreas rurais, é causada principalmente por toxinas específicas e infecções que provocam quadros de diarreia e hipovolemia. A etiologia pode ser secundária à agentes causadores da malária, leptospirose, dengue e acidentes com animais peçonhentos, fatores estes dependentes da localização geográfica e de variações sazonais (BELLOMO et al., 2012; LEWINGTON et al., 2014).

A IRA é encontrada em múltiplas configurações e em todas as faixas etárias e seu curso e resultados são determinados pela gravidade e duração do evento (LEWINGTON et al., 2014). Evidências epidemiológicas demonstram associação entre IRA e consequências adversas a longo prazo incluindo DRC (doença renal crônica) (HORNE et al., 2017).

Pacientes com IRA podem não apresentar sintomas específicos da doença, porém podem apresentar sintomas das doenças subjacentes como sepse, insuficiência cardíaca, vasculites sistêmicas, microangiopatia trombótica, entre outras (PATSCHE e MULLER, 2015). Dessa forma, para fins de diagnóstico e tratamento a IRA é dividida em três etiologias: pré-renal, renal e pós-renal. A primeira é causada por problemas que provocam hipoperfusão renal como hipovolemia (secundária à diarreias, hemorragias e queimaduras, por exemplo), diminuição do débito cardíaco, vasodilatação periférica (choque anafilático e uso de anti-hipertensivos), vasoconstrição renal e determinadas drogas. O parênquima renal permanece íntegro, ocorre em 55% dos casos e o dano pode ser revertido dentro de um a dois dias (NUNES et al., 2010, COSTA et al., 2003). É a causa mais comum em pacientes criticamente doentes e hospitalizados (BELLOMO et al., 2012).

Na IRA de origem renal, que representa 40% dos casos de IRA, o parênquima é diretamente afetado e a arquitetura microscópica do rim é significativamente alterada (NUNES et al., 2010). A maioria destes se deve às alterações tubulares causadas por lesões isquêmicas ou nefrotóxicas que deterioram o metabolismo tubular culminando em apoptose/necrose. A esse processo chamamos Necrose Tubular Aguda e sua reversão não é garantida pela retirada da causa inicial (PATSCHE E MULLER 2015).

A IRA de origem pós-renal é causada por doenças associadas à obstrução do trato urinário que comprometem o fluxo urinário. Ocorre em 5% dos casos e pode ser decorrente de doença prostática benigna, bexiga neurogênica, malignidades abdominais e uso de anticolinérgicos (NUNES et al., 2010; COSTA et al., 2003; PATSCHE E MULLER 2015).

Nos últimos anos, grupos de consenso interdisciplinares propuseram sistemas padronizados para definir e classificar a IRA (ROY et al., 2013). Foram criados os critérios

RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, End Stage*), AKIN (*Akute Kidney Injury Network*) e KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*). Esse último foi criado mais recentemente e se fundiu aos outros dois com o objetivo de aprimorar o diagnóstico precoce de IRA (ZHOU et al., 2016). Para todos eles, o estágio da doença é determinado com base nas alterações dos valores basais de creatinina sérica, taxa de filtração glomerular (TFG) ou diurese. A **Tabela 1**, por exemplo, traz as alterações sofridas pela creatinina plasmática e o respectivo estadiamento da IRA feito com base nessas alterações. Quanto ao critério RIFLE, os três primeiros descrevem o grau em que a IRA se encontra, e os dois últimos descrevem desfechos clínicos correspondentes às situações mais graves e de pior prognóstico (HOSTE et al., 2006). Esses critérios permitem o diagnóstico clínico confiável de IRA e indicam uma relação direta entre a gravidade da doença e o desfecho clínico (RICCI et al., 2011; LEVI et al., 2013).

Tabela 1. Diagnóstico e estadiamento de IRA dos critérios RIFLE, AKIN, KDIGO

Classificação	Definição de IRA	Estágio	Critérios
RIFLE	Aumento de SCr \geq 50% dentro de 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 \geq 0,5 mg/dL até chegar a 4,0 mg/dL
		Perda	Insuficiência renal aguda persistente = perda completa da função renal > 4 semanas
		Estágio final	Doença renal em estágio terminal > 3 meses
AKIN	Aumento de SCr \geq 0,3 mg/dL ou 50% dentro de 48h	I	\geq 0,3 mg/dL ou de 1,5 a 1,9 vezes o valor basal.
		II	> 2-2,9 vezes o valor basal
		III	\geq 3 vezes o valor basal, ou \geq a 0,5 mg/dL para pelo menos 4,0 mg/dL ou TSR
KDIGO	Aumento de SCr \geq 0,3 mg/dL dentro de 48h ou \geq 50% dentro de 7 dias	1	\geq 0,3 mg/dL dentro de 48h ou > 1,5 a 1,9 vezes o valor basal
		2	> de 2-2,9 vezes o valor basal
		3	> 3 vezes no valor basal ou chegar até a 4,0 mg/dL ou TSR

Fonte: adaptada de HOSTE et al., 2006 e ZHOU et al., 2016; Scr: creatinina sérica, TSR: terapia de substituição renal.

Na IRA ocorrem alterações vasculares e tubulares que expressam proteínas até 3 dias antes dos sintomas clínicos, as quais podem ser mensuradas na urina e no plasma (WASUNG et al., 2015). A ideia de pesquisar novos biomarcadores surgiu da necessidade de avaliar o dano renal precoce que drogas em estudo de fase pré-clínica poderiam causar aos animais e assim embasar a tomada de decisões sobre a continuidade da pesquisa evitando os gastos relacionados ao desenvolvimento de novos medicamentos (ZUK E BONVENTRE, 2017). Clinicamente, a

identificação de biomarcadores que se alteram precocemente é de grande utilidade para reduzir o atraso no diagnóstico de IRA, que ainda depende muito da quantificação sérica de creatinina, cujo valor se altera somente após queda de 50-60% da taxa de filtração glomerular (DALLACOSTA et al., 2017). Resumidamente os biomarcadores mais estudados atualmente são a Lipocaína Associada a Gelatinase Neutrófila (NGAL), a Interleucina-18 (IL-18), o Molécula de Injúria Renal 1 (KIM-1), a Cistatina-C, a Proteína Hepática de Ligação de Ácidos Graxos (L-FABP), o N-Acetil- β -d-glucosaminidase (NAG), a Netrina-1, a Vanina-1 e o Peptídeo-1 Quimiotático para Monócitos (MCP-1). Todos foram estudados em condições diferentes e cada um possui especificidade própria, como a amostra na qual devem ser investigados, tempo de surgimento e parâmetro renal a ser avaliado (MAGRO e VATIMMO, 2007; PERES et al., 2013; WASUNG et al., 2015).

Em relação ao tratamento da IRA, ainda não existem drogas que realmente estimulem a função excretora dos rins ou que modulem completamente sua regeneração. As anormalidades metabólicas decorrentes podem ser normalizadas pela terapia de substituição renal. No entanto, nenhum regime de terapia de reposição renal é equivalente ao rim normal em termos de desintoxicação. Portanto, o foco do tratamento deve ser a recuperação renal. Dessa forma, o tratamento de IRA se faz por meio de três condutas: tratar a doença de base (sepse, insuficiência cardíaca, entre outras), tratar as complicações da IRA como a hipercalemia, a acidose metabólica e a hipervolemia e por último minimizar o agravamento do dano renal ao controlar a pressão arterial ou evitar a administração de drogas nefrotóxicas, por exemplo (PATSCHEAN E MULLER, 2015; CARDOSO, 2017).

1.2 Nefrotoxicidade Induzida por Fármacos

Os fármacos são ferramentas fundamentais para a resolução de diversas patologias. No entanto seus efeitos colaterais podem afetar gravemente a saúde de seus usuários (PAZHAYATTILE E SHIRALI, 2014).

A nefrotoxicidade induzida por fármacos é uma causa de morbidade reconhecida e pode atingir pacientes hospitalizados e ambulatoriais. Corresponde de 17-26% dos casos de IRA hospitalar em população adulta e 16% em crianças. Tal condição pode ser dispendiosa e exigir diversas intervenções (DECLOEDT e MAARTENS, 2011; RUSSO, 2013; SHAHRBAF e ASSADI, 2015; AWDISHU E MEHTA, 2017).

Os rins são constantemente expostos a ação de drogas pois são importantes para o seu processo de metabolização e eliminação (MUNAR et al., 2007). Devido ao seu papel primordial

de excretar metabólitos, tanto endógenos quanto exógenos, os rins recebem uma porcentagem significativa do débito cardíaco e possuem um robusto fluxo sanguíneo. Portanto, estão sujeitos a desenvolver várias formas de lesão que podem afetar um ou mais compartimentos renais e levar à IRA, tubulopatias, doença renal proteinúrica e doença renal crônica (PERAZELLA, 2009; PAZHAYATTILE E SHIRALI, 2014).

A IRA induzida por drogas é uma complicação relativamente comum onde as consequências clínicas variam com o fármaco. É uma condição passível de prevenção e reversão. Na maioria dos casos é aguda e sua resolução pode ser alcançada com a retirada do fármaco (RUSSO, 2013; AWDISHU E MEHTA, 2017).

Não existem padrões para identificar a nefrotoxicidade induzida por drogas e por isso, muitas vezes, ela não é reconhecida (METHA et al., 2015). A maioria dos estudos definiu como um aumento da creatinina de 0,5mg/dL ou de 50% no período de 24-72h e após 24-48h após exposição ao fármaco. No entanto, tal estratégia é limitada em caso de função renal flutuante ou para pacientes em terapia de substituição renal. Em um paciente com sepse e em uso de antimicrobianos, por exemplo, é possível confundir a origem da lesão: se advém da condição clínica ou do antimicrobiano em uso. Para um diagnóstico mais preciso é necessário correlacionar o efeito do fármaco com a lesão desenvolvida e ter sempre em mãos os dados de função renal do paciente antes e após a administração do fármaco considerando também que a exposição deve ser de pelo menos 24 horas antes do evento (AWDISHU E MEHTA, 2017).

A lista de drogas potencialmente nefrotóxicas é longa, mas felizmente a maioria é bem tolerada (WALKER et al., 2012). Existem drogas que causam lesão a depender da dose e do período de tratamento enquanto outras tem a lesão como um evento adverso raro. As primeiras são passíveis de prevenção, as segundas não (DECLOEDT e MAARTENS, 2011; AWDISHU e MEHTA, 2017). Os mecanismos pelos quais atuam são classificados com base no componente histológico do rim que é afetado, e um mesmo fármaco pode afetar vários aspectos da função renal (RUSSO, 2013; AWDISHU e MEHTA, 2017).

Quando a administração de fármaco nefrotóxico se faz necessária a função renal deve ser monitorada frequentemente e as dosagens devem ser ajustadas de acordo com a taxa de filtração glomerular (RUSSO, 2013; MUNAR e SINGH, 2007). Os cuidados básicos relacionados à prevenção são evitar exposição a nefrotoxinas, monitorar continuamente a função renal e suspender o uso do fármaco (PANNU e NADIM, 2008).

Os fatores de risco dependem de características relacionadas ao paciente, aos rins e as drogas. O paciente idoso é um dos mais afetados devido a baixa massa muscular que leva a valores falsamente elevados na TFG, número reduzido de néfrons funcionantes e uso de

polifarmácia (PERAZELLA, 2009; PAZHAYATTIL e SHIRALI, 2014). Outra característica relacionada ao paciente, são as diversas patologias que podem potencializar a nefrotoxicidade induzida por drogas. Por exemplo, pacientes com hipoalbuminemia possuem maior fração de fármaco livre que aumenta a toxicidade da droga, distúrbios metabólicos que alteram o pH urinário e podem levar a precipitação de cristais, alguns quadros que levam a hipoperfusão renal como depleção do volume intravascular e insuficiência cardíaca congestiva, o diabetes, doença renal crônica e sepse (SHAHRBAF e ASSADI, 2015). Além disso, a predisposição genética é também um fator importante devido a resposta imune desenvolvida e os polimorfismos envolvidos no metabolismo das drogas (CIARIMBOLI et al., 2005; ULRICH et al., 2006).

O potencial da toxicidade pode aumentar no microambiente renal. Os fatores intrínsecos aos rins são aqueles que compõem a fisiologia natural do órgão, mas que favorecem um quadro de toxicidade. São eles: o papel de biotransformar xenobióticos cujos metabólitos podem promover desequilíbrio redox, os sistemas de transporte das células tubulares proximais que absorvem muitas toxinas e o ambiente de hipóxia da alça de Henle devido a sua alta atividade metabólica (PERAZELLA, 2009; PAZHAYATTIL e SHIRALI, 2014). Aqueles relacionados aos fármacos são doses e terapias prolongadas com drogas nefrotóxicas e a combinação de agentes que aumentam o risco - por exemplo, aminoglicosídeos, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), radiocontraste e cisplatina (SINGH et al., 2003; GUO et al., 2002; WYATT et al., 2006).

1.3 Cisplatina

1.3.1 Nefrotoxicidade induzida por cisplatina e condutas clínicas

A cisplatina é um fármaco alquilante que juntamente com a oxaliplatina e a carboplatina, formam o trio de análogos da platina mais usados clinicamente. Todas compartilham o mesmo mecanismo farmacológico de ligar-se ao DNA, inibir sua síntese e função e dessa forma matar as células tumorais em todas as fases do ciclo celular. Por serem fármacos extensamente depurados pelos rins e excretados pela urina, seu uso requer atenção à função renal dos pacientes (KATZUNG, 2014).

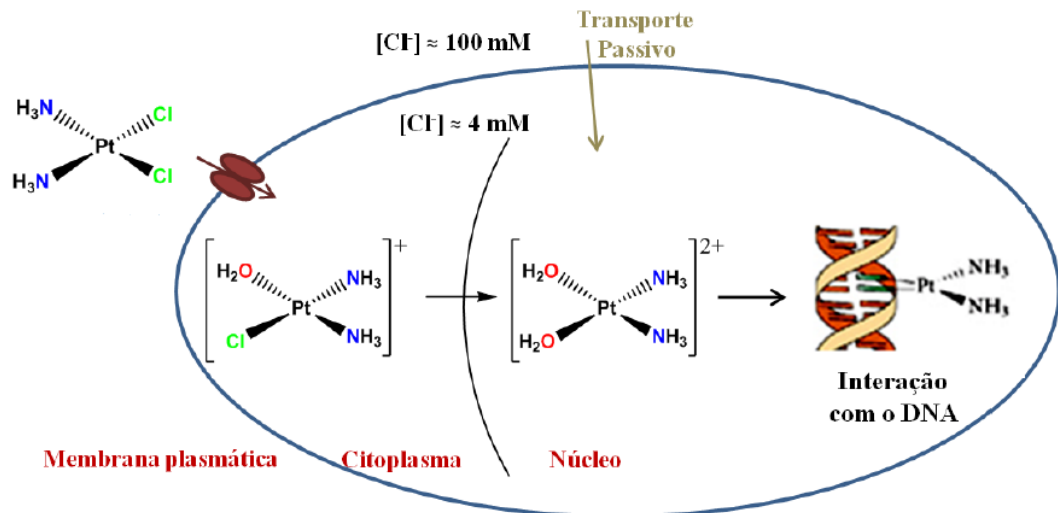
A cisplatina (cis-diaminodicloroplatina II, CDDP) foi descoberta acidentalmente em 1965 pelo biofísico americano Barnett Rosenberg, que observou que o crescimento da bactéria *Escherichia coli* era inibido na presença de compostos de platina (ROSENBERG et al., 1965; HOESCHELE, 2014). A partir daí o composto foi isolado e seu efeito antitumoral estudado. Em 1978 o uso da cisplatina foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA). Foi a

primeira droga contendo platina aprovada como antineoplásico. E apesar dos avanços no tratamento quimioterápico, continua sendo intensamente procurada devido a sua eficácia e por demonstrar uma das maiores taxas de cura que, por exemplo, pode ser superior a 90% no carcinoma testicular (PABLA e DONG, 2008; MANOHAR e LEUNG, 2017). Ela permanece como um componente padrão no regime quimioterápico de diversos cânceres, sendo eles: testicular, de ovário, bexiga, cabeça e pescoço, pulmão, esôfago, de pequenas e não pequenas células, mama, cervical, estômago, próstata, linfomas Hodgkin e não-Hodgkin, neuroblastoma, sarcomas, mieloma múltiplo, melanoma e mesotelioma (MILLER et al., 2010; MANOHAR e LEUNG, 2017).

A cisplatina exerce seu efeito de toxicidade celular por meio de vários mecanismos que envolvem basicamente dano oxidativo, inflamação e apoptose, bem como a ativação de diversas e complexas vias de morte. Tais mecanismos são a razão que a torna uma droga antineoplásica indispensável e também um desafio para busca de estratégias de proteção para as células saudáveis (MANOHAR e LEUNG, 2017).

Diferentemente da maioria dos antineoplásicos, que possuem estrutura orgânica complexa, a cisplatina é uma molécula inorgânica simples. Consiste em um átomo de platina ligado a dois átomos de cloro e duas moléculas de amônia (SANTOS et al., 2012). Sua citotoxicidade está relacionada aos metabólitos formados no meio intracelular. Após adentrar as células por difusão passiva ou por meio de transportadores específicos, a baixa concentração de cloro no interior da célula faz com que os cloretos das moléculas de cisplatina sofram hidrólise convertendo a molécula em metabólitos altamente reativos ($[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$) que formam ligações cruzadas com o DNA e reagem com outros componentes celulares (**Figura 1**) (MILLER et al., 2010; SANTOS et al., 2012; ZHU et al., 2015).

Figura 1. Estrutura, transporte e hidrólise da molécula de cisplatina



Fonte: adaptado de NEVES E VARGAS, 2011

O uso da cisplatina é limitado por dois fatores: a resistência adquirida ao fármaco e seu efeito colateral nos tecidos normais (náuseas e vômitos, neurotoxicidade, ototoxicidade e nefrotoxicidade). Dessa forma, embora seja um dos pilares na luta contra o câncer e esteja no mercado há mais de 40 anos, clínicos e comunidade científica ainda lutam contra seu principal efeito colateral que é a nefrotoxicidade, a qual pode ser observada em 20-30% dos pacientes. Antes da era da hidratação e diurese essa incidência chegava a 100% (OJHA et al., 2016; MANOHAR e LEUNG, 2017).

Segundo um estudo realizado em 2015, 68% dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço em uso de cisplatina e radioterapia desenvolveram IRA, com redução da TFG, apesar da hidratação e uso de furosemida. Um mês após o tratamento houve aumento da TFG, no entanto não houve retorno aos níveis basais. Além do impacto negativo na função renal, concluiu-se que, o dano leva à suspensão do tratamento, com conseqüente risco de recidiva do tumor e surgimento de tumores secundários, aumentando assim as taxas de mortalidade (BHAT et al., 2015).

Além de injúria renal aguda, o tratamento com cisplatina pode causar doença renal crônica, pois apesar de o dano tubular se recuperar, a inflamação pode persistir e levar à fibrose e redução persistente da TFG. O regime de administração desse antineoplásico em baixas doses repetidas, que é o mais comum, é o que mais favorece o desenvolvimento de DRC (SHARP E SISKIND, 2017; GÓMEZ-SIERRA et al., 2018).

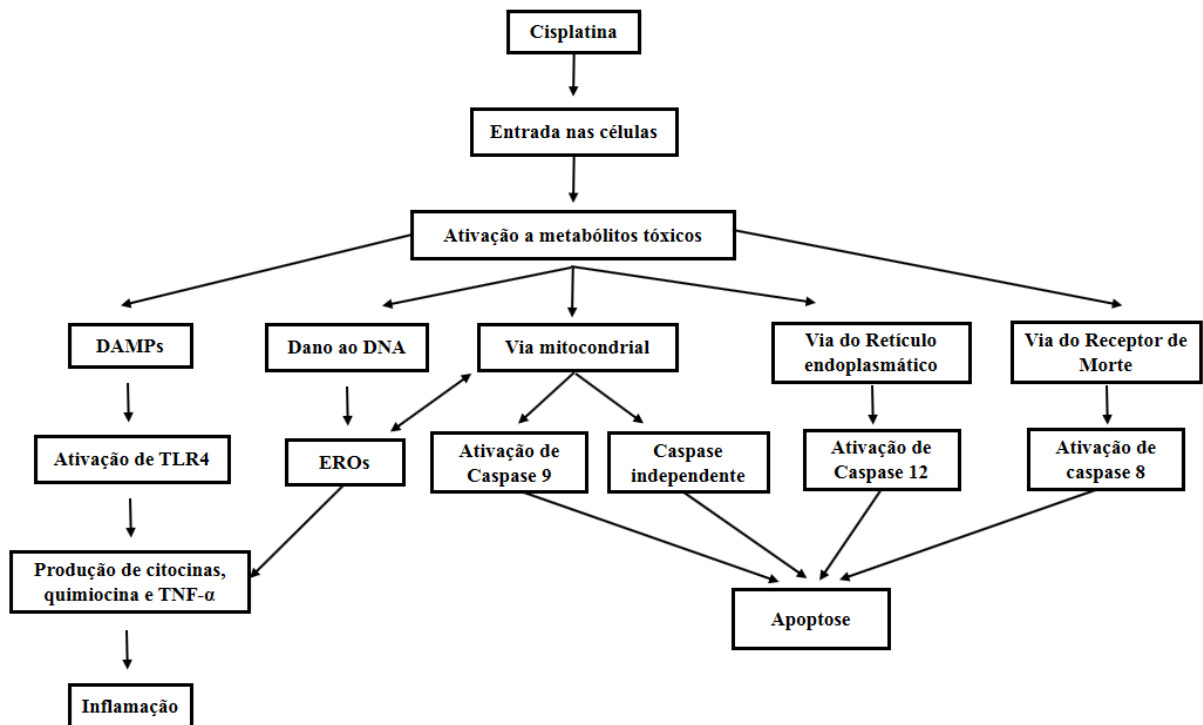
Atualmente a conduta clínica baseia-se em hidratar o paciente com solução salina antes da administração de cisplatina, para dessa forma estimular a diurese e o menor contato da droga

com o rim (HAYATI et al., 2016; MACH et al., 2017; NEMATBAKHSH et al., 2018; DUFFY et al., 2018). Foi sugerido que a salina fornece íons cloreto que reduzem a hidrólise da molécula de cisplatina o que leva a menor produção de espécies reativas (HAYAT et al., 2016). Furosemida e manitol também são utilizados na prevenção da nefrotoxicidade por cisplatina, mas estudos demonstram que o seu uso não traz qualquer benefício adicional (MILLER et al., 2010; MACH et al., 2017).

A carboplatina e a oxaliplatina são alternativas menos nefrotóxicas pois não interagem com OCT2 (transportador de cátions orgânicos tipo 2) responsável pela captação renal da cisplatina (CIARIMBOLI et al., 2005). Esses fármacos são, portanto, uma opção para pacientes com doença renal adjacente. No entanto, não são tão eficazes como a cisplatina é para alguns tipos de câncer (WHEATE et al., 2010). A amifostina é o único agente renoprotetor indicado pelo FDA. No entanto quando usada em regimes cuja administração de cisplatina se faz em baixas doses repetidas, ocorre nefrotoxicidade grave, sugerindo baixa eficácia nos tratamentos quimioterápicos que seguem tal regime, sendo esses a maioria. Dessa forma, seu efeito citoprotetor não está demonstrado de forma consistente e por essa razão a amifostina não é mais utilizada para prevenir a IRA por CIS para a maioria dos tipos de câncer, se limitando apenas ao câncer de pulmão e ovários (CULY e SPENCER, 2001; SASTRY e KELLIE, 2005; SHARP e SISKIND, 2017; MANOHAR e LEUNG, 2017).

1.3.2 Mecanismos de nefrotoxicidade por cisplatina

O mecanismo de toxicidade da cisplatina ocorre por meio de seis processos. São eles: o transporte celular da droga, seu metabolismo a compostos mais tóxicos, o dano a organelas citoplasmáticas em especial a mitocôndria e o retículo endoplasmático, a morte celular por apoptose, o estresse oxidativo e a inflamação (**Figura 2**) (PERES e CUNHA, 2013; MANOHAR e LEUNG, 2017).

Figura 2. Resumo das principais vias lesão celular induzida por cisplatina

Fonte: Adaptado de Manohar e Leung, 2017

A cisplatina é eliminada pelo rim por filtração glomerular e secreção tubular. Ela entra nas células epiteliais tubulares por difusão passiva ou difusão facilitada mediada pelo transportador de cátion orgânico do tipo 2 (OCT2) e pelo transportador de cobre humano do tipo 1 (CTR1). O primeiro está expresso no intestino, rim, fígado e cérebro e seu subtipo 2 nos segmentos S2 e S3 do túbulo contorcido proximal, na região basolateral. O segundo transportador é expresso em múltiplos órgãos. Nos rins se encontra principalmente na porção proximal e distal dos túbulos, também localizado na membrana basolateral (ISHIDA et al., 2002; PABLA et al., 2009; PERES e CUNHA, 2013). Esses transportadores medeiam o acúmulo de cisplatina nos rins no sentido basolateral apical e explicam o fato de sua concentração nesse tecido ser bem maior que sua concentração sanguínea (MILLER et al., 2010).

Além da hidrólise intracelular sofrida pela cisplatina, foi proposto outro mecanismo no qual a droga passa por sua primeira biotransformação na circulação sanguínea. A enzima glutatona S-transferase catalisa a formação de conjugados de glutatona-cisplatina que se dirigem aos rins onde são clivados em conjugados de cisteinil-glicina pela gama glutamil transferase (Gama-GT), expressa na superfície das células tubulares proximais. Aminodipeptidases, ali também expressas, transformam esses conjugados em adutos de

cisplatina-cisteína que são transportados para o interior das células tubulares e metabolizados à tióis altamente reativos pelo complexo cisteína- β -liase (TOWNSEND et al., 2003). O produto formado consiste em uma nefrotoxina mais potente (MANOHAR e LEUNG, 2017).

Assim foi proposto que os produtos da hidrólise e do processo acima citado, reagem com vários componentes celulares como DNA, RNA e proteínas. O dano ao DNA nuclear consiste na formação de ligações cruzadas com as bases citosina e guanina. Isso inviabiliza os processos de replicação e transcrição e termina em parada do ciclo celular e apoptose (WANG e LIPPARD, 2005; JIANG e DONG, 2008). Dessa forma a cisplatina liga-se ao DNA de células cancerígenas, que proliferam rapidamente, provocando sua morte. No entanto, menos de 1% da droga presente na célula encontra-se ligada ao DNA e também foi demonstrado que a cisplatina é capaz de induzir apoptose em células anucleadas, ou seja, independentemente de ligação ao DNA (BURGER et al., 1997; MANDIC et al., 2003).

Dessa forma, muitas evidências apontam que o dano causado pela cisplatina se estende a outras organelas e em especial à mitocôndria e ao retículo endoplasmático (MANOHAR E LEUNG, 2017). O DNA mitocondrial é um importante alvo devido a sua pobreza de reparação e seu bloqueio pela cisplatina leva à redução da expressão de proteínas no transporte de elétrons, bloqueio da produção de adenosina trifosfato (ATP) e geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) (PORTILLA et al., 2002; ISNARD-BAGNIS et al., 2005; MARULLO et al., 2013). O metabólito catiônico gerado pela hidrólise da droga possui grande afinidade pelas mitocôndrias cuja carga é negativa. A cisplatina interfere na geração de energia por meio da inibição da oxidação de ácidos graxos que são a principal fonte de energia para o túbulo proximal. Ela também reduz a expressão do receptor de proliferação de peroxissomo α (PPAR α) importante para o metabolismo dos ácidos graxos. Foi demonstrado que um agonista de PPAR α reduz a nefrotoxicidade por cisplatina (PORTILLA et al., 2002; ISNARD-BAGNIS et al., 2005; LI et al., 2004). O túbulo contorcido proximal possui alta atividade metabólica e conseqüentemente maior concentração de mitocôndrias, sendo assim o compartimento renal mais afetado (HIRAMA et al., 2006; PERES E CUNHA, 2013).

E quanto ao retículo endoplasmático, células tumorais anucleadas que receberam cisplatina, sofreram apoptose via caspase 12, enzima presente nessa organela. O dano alterou a homeostase do cálcio, necessário para ativação de calpaína (marcador de estresse do retículo endoplasmático) e caspase 3 (MANDIC et al., 2003).

Na toxicidade por cisplatina, o processo de morte celular é complexo e envolve diversas vias e mediadores ocorrendo tanto por necrose como por apoptose (LIEBERTHAL et al., 1996; LEE et al., 2001; MEGYESI et al 1998; RAMESH et al., 2005). Esses dois processos foram

observados *in vivo* e *in vitro*, sendo que *in vitro* baixas doses levam a apoptose e altas a necrose (LIEBERTHAL et al., 1996; LEE et al., 2001). A apoptose ocorre pelas vias extrínseca e intrínseca sendo ambas mediadas pela p53, o principal regulador da apoptose (GÓMEZ-SIERRA et al., 2018). A produção de EROs induzida por cisplatina promove sua fosforilação e estimula sua atividade. Assim, p53 ativa a via extrínseca ao induzir a transcrição de Fas e do Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α) e de seus receptores de morte que, por fim, leva à ativação da caspase 8 (TAKEDA et al., 1997; TSURUYA et al., 2003; SETH et al., 2005). Na via intrínseca mitocondrial p53 aumenta a expressão de PUMA- α que ativa as proteínas pró-apoptóticas da família Bcl-2 (Bax e Bak). Estas alteram a integridade da membrana mitocondrial com a formação de poros e subsequente liberação do citocromo C (apoptose dependente de caspases) e de AIF (fator indutor de apoptose) (JIANG et al., 2006; DOI et al., 2010; SHARFUDDIN e MOLITORIS, 2011; MUNSHI et al., 2011). O estresse celular induzido por cisplatina também ativa as três vias de MAPK (ERK, p38 e JNK) que consistem em várias proteínas com atividade serina/treonina quinases ativadas em muitos processos regulatórios incluindo a apoptose (SHARFUDDIN e MOLITORIS, 2011; SIROTA et al., 2011; CLARK et al., 2010).

A inflamação desempenha um papel relevante na patogênese da nefrotoxicidade induzida por cisplatina e o TNF- α possui função importante (MILLER et al., 2010). A cisplatina ativa a fosforilação e a translocação do fator de transcrição nuclear *kappa* B (NF- κ B) para o núcleo e a consequente expressão de TNF- α . Essa citocina por sua vez ativa o receptor de TNF tipo 1 (TNFR1), que possui um domínio de morte e provoca apoptose. O receptor de TNF tipo 2 (TNFR2) também é ativado e, por sua vez, promove uma resposta inflamatória intensa que pode potencializar os efeitos pró-apoptóticos da ativação do TNFR1. Além disso, o TNF- α também coordena a ativação de outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-4, IL-6, TGF- β e MCP-1 e também aumenta a expressão de moléculas de adesão que promovem influxo de células inflamatórias no tecido, tais como, ICAM-1 (molécula de Adesão Intercelular 1), VCAM-1 (molécula de adesão celular vascular 1) e selectina E (ZHANG et al., 2007; KONO e ROCK, 2008; GLUBA et al., 2010). Vale ressaltar que o TNF- α é produzido pelas próprias células renais e a infiltração de células inflamatórias pode servir como um reservatório de citocinas e quimiocina, intensificando assim a lesão (ZHANG et al., 2007; RAMESH e REEVES, 2003). A lesão induzida por cisplatina pode levar a uma inflamação persistente que conduz à fibrose e perda final da função renal. As citocinas e quimiocinas induzem a ativação de fibroblastos que secretam substâncias resistentes à degradação, as quais formam uma cicatriz fibrosa que leva a perda da função renal, quadro característico de DRC (YU et al., 2016; SHARP

e SISKIND, 2017).

Os receptores *Toll Like* (TLRs) também exercem um importante papel na resposta inflamatória desencadeada. Tais receptores atuam na imunidade ao detectar moléculas de organismos invasores e moléculas endógenas chamadas DAMPs (Padrão Molecular Associado ao Dano) iniciando uma resposta imune. A cisplatina causa lesão intracelular resultando na liberação de DAMPs que ativam TLRs, levando a liberação de quimiocina e citocinas tais como o TNF- α (KONO e ROCK, 2008; GLUBA et al., 2010; KIM, 2016).

O desequilíbrio redox induzido por cisplatina pode ser o principal mecanismo relacionado à nefrotoxicidade (PERES e CUNHA, 2013). O estresse oxidativo resulta em peroxidação lipídica, nitração de proteínas, inativação enzimática e quebra do DNA. Tais processos, como já dito, levam à ativação de vias apoptóticas e morte celular (CETIN et al., 2006; SANTOS et al., 2007; PABLA e DONG, 2008). Dois mecanismos induzem a produção de EROs: a interação com a glutatona para formação de uma nefrotoxina mais potente (o que esgota os seus estoques) e a interferência na cadeia respiratória mitocondrial (MANOHAR e LEUNG, 2017). Ocorre a produção de ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e radical hidroxila ($OH\bullet$) e redução dos sistemas de defesa como glutatona reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx). Além disso, a produção de EROs estimula a síntese da enzima óxido nítrico sintetase (iNOS) e, conseqüente, acúmulo de óxido nítrico (NO) e peroxinitritos ($ONOO^-$) que potencializam o dano (RAMESH e REEVES, 2005; CETIN et al., 2006; SANTOS et al., 2007; CHIRINO et al., 2008).

Embora a ciência tenha avançado muito na compreensão dos mecanismos da toxicidade causada pela cisplatina ainda precisamos progredir no desenvolvimento de estratégias renoprotetoras (OJHA et al., 2016). O estresse oxidativo desempenha um papel fundamental no dano renal induzido pela cisplatina, portanto, nesse contexto, cabe o estudo de substâncias antioxidantes como nova estratégia renoprotetora (GÓMEZ-SIERRA et al., 2018).

1.4 *Zingiber officinale* Roscoe e Gingeróis

O uso medicinal de plantas nos cuidados de saúde ainda prevalece, principalmente em países subdesenvolvidos onde o acesso aos serviços de saúde é limitado. O uso tradicional de plantas constitui uma fonte inesgotável de conhecimento e nos instiga a investigar e comprovar suas propriedades medicinais e caracterizar seus compostos que mais tarde podem originar novos fármacos (NEWMAN, 2008). A maioria dos componentes de plantas medicinais responsáveis pelos efeitos terapêuticos pertencem à classe dos alcalóides, taninos, flavonóides e compostos fenólicos (KUMAR et al., 2011).

O *Zingiber officinale* é popularmente conhecido como gengibre e consiste em uma planta com rizoma subterrâneo de características aromáticas, nodoso, carnudo, de cor amarela e coberto de cicatrizes semelhantes a anéis (**Figura 3**) (KUMAR et al., 2011). É cultivado em clima tropical e subtropical e tem origem asiática e malaia (DEBIASI et al., 2004).

Figura 3. Vista geral da planta e do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe



Fonte: MESOMO, 2013

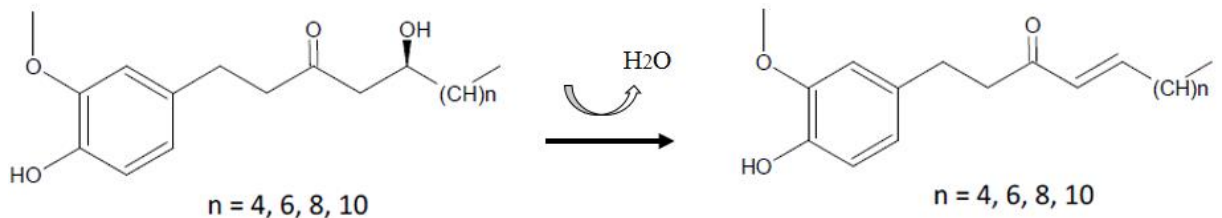
O gengibre tem sido utilizado há muitos anos como condimento e planta medicinal. Seu uso na China e Índia é milenar sendo usado para o tratamento de diversas condições como resfriado, desconforto gastrointestinal e reumatismo (SHAREEF et al., 2016). Com o passar do tempo seu uso foi popularizado, ampliado para outras patologias e acompanhado de comprovação científica (KUMAR et al., 2011). Pacientes com doenças crônicas e graves buscam alternativas naturais, e atualmente, o gengibre é muito utilizado como antiinflamatório, por exemplo (SHAREEF et al., 2016).

Além do consumo como alimento, devido ao seu alto valor nutricional e ação antioxidante o gengibre também está disponível para consumo em diversas formas farmacêuticas como cápsulas, xaropes e pastilhas.

O óleo volátil do gengibre é responsável por seu odor e sabor característico, nele se encontram os compostos farmacologicamente ativos e seu rendimento varia de 1-3%. Mais de 50 componentes foram caracterizados. A pungência do gengibre fresco se deve principalmente aos gingeróis, que são uma série homóloga de compostos fenólicos cujo comprimento da cadeia varia de seis a dez carbonos. Sendo o 6-gingerol o mais pungente e abundante entre eles. A pungência do gengibre seco se deve aos shogaóis que se originam dos gingeróis durante o

processo de secagem (desidratação) do rizoma (**Figura 4**) (ALI et al., 2008; VIEIRA et al., 2014; SHAREEF et al., 2016).

Figura 4. Estrutura química dos gingeróis e sua desidratação aos shogaios correspondentes.



Fonte: Adaptado de ALI et al., 2008.

O uso medicinal do gengibre motivou a comunidade científica a estudar suas propriedades por meio do isolamento e caracterização farmacológica de seus componentes. A atividade farmacológica do gengibre, em sua maioria, é atribuída aos gingeróis e shogaios nele presentes (SINGH et al., 2010).

O 6-gingerol é o componente mais estudado em diferentes configurações experimentais (CHANG e KUO, 2015). Sua eficácia em atenuar o processo patológico tem sido demonstrada em muitos modelos que envolvem inflamação, oxidação e apoptose. Em um modelo de lesão sistêmica induzida por organofosforado, uma fração do gengibre rica em 6-gingerol foi capaz de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e os estoques de GSH, bem como inibir a atividade de caspase 3 e reduzir os níveis de TNF- α e NO em cérebro, ovário e útero de ratos (ABOLAJI et al., 2010).

Em um modelo murino de colite ulcerativa induzida por dextrano, o [6], [8] e [10]-gingerol foi capaz de reduzir o infiltrado de neutrófilos observado pela diminuição da atividade de MPO e promoveu uma atividade antioxidante com redução do malondialdeído (MDA) e reduziu TNF- α e IL-1 β no soro (ZHANG et al., 2017).

Além das atividades citadas muitos estudos demonstraram ação antiproliferativa e antitumorais do 6-gingerol, a qual ocorre por diferentes mecanismos como indução da apoptose, parada do ciclo celular, ação anti-invasivas e anti-inflamatórias (LIMA et al., 2018). Em um estudo que utilizou espectrometria de massa, o extrato metanólico de gengibre e diversos compostos isolados, incluindo alguns gingeróis e shogaios, foram capazes de inibir especificamente a ciclo oxigenase 2 (COX-2) (BREEMEN e LI, 2012).

O 8-gingerol foi capaz de inibir a melanogênese induzida por radiação ultravioleta devido a sua atividade antioxidante e captação de radicais livres em células de melanoma

(HUANG et al., 2013). Outro estudo demonstrou que o 8-gingerol reduziu o infiltrado de linfócitos B e T na inflamação induzida por ovoalbumina em camundongos (LU et al., 2011).

Um estudo comparativos das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias dos compostos de alguns gingeróis mostrou que o 6-shogaol é mais potente em relação a essas atividades, o que justifica o uso do gengibre seco na medicina tradicional (DUGASANI et al., 2010).

Os efeitos benéficos dos componentes do gengibre também são observados em modelos de agravo renal. Na nefropatia diabética induzida por aloxano o tratamento com extrato de gengibre reduziu as concentrações plasmáticas de creatinina, ureia e ácido úrico (EUSHATER et al., 2009). Em outro modelo de diabetes tipo II a administração de 6-gingerol atenuou a injúria renal secundária. No tecido renal o nível de MDA foi reduzido e a atividade de SOD, GPx e catalase restaurada, mostrando importante atividade antioxidante (SINGH et al., 2010).

Na injúria renal induzida por gentamicina, a administração de extrato hidroalcoólico de gengibre de forma profilática diminuiu as alterações histopatológicas (NASRI et al., 2013). Em outro estudo, com o mesmo modelo, um extrato enriquecido com gingeróis reduziu a nefrotoxicidade observada pela melhora da função renal, redução de marcadores de desequilíbrio redox (MDA e nitrito) e da expressão de citocinas pró-inflamatórias (RODRIGUES et al., 2014). Da mesma forma, o tratamento com 6-gingerol isoladamente, atenuou a azotemia, o dano oxidativo, a expressão de caspase 3 e as alterações histopatológicas no mesmo modelo (HEGAZY et al., 2016).

A exposição aguda ao mercúrio é capaz de induzir injúria renal. Os danos são provocados pelo estresse oxidativo que leva ao aumento de excretas nitrogenadas no soro, peroxidação lipídica, diminuição da atividade de enzimas antioxidantes e dos estoques de GSH. O tratamento com 6-gingerol atenuou todos esses parâmetros em animais expostos ao cloreto de mercúrio (JOSHI et al., 2017).

Na injúria renal por ciclosporina um extrato enriquecido com polifenóis do gengibre foi capaz de atenuar a queda do *clearance* de creatinina, restaurar a arquitetura histológica e aumentar a glomerular renal e reduzir a ureia plasmática (ADENKULE et al., 2018).

Em um modelo de lesão renal induzido por sepse, tanto o 6-gingerol como o 10-gingerol foram capazes de reduzir marcadores de estresse oxidativo, a expressão das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , TGF- β , IL-1 β e do marcador de lesão tubular KIM-1. Além disso, a presença ou ausência de alguns metabólitos detectados por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , na urina dos animais tratados, sugere a participação dos gingeróis estudados em algumas vias metabólicas importantes. Por exemplo, observou-se o aumento de metilsulfonilmetano

(MSM) na urina dos animais tratados com gingerol. O MSM é um metabólito anti-inflamatório e antioxidante, capaz de inibir a via do NF- κ B (BEILKE et al., 1987; KIM et al., 2009; RODRIGUES et al., 2018).

Ajith e colaboradores estudaram o efeito nefroprotetor do extrato etanólico de gengibre em modelo animais de lesão renal induzida por cisplatina. Houve redução dos valores plasmáticos de creatinina e ureia e do dano oxidativo (AJITH et al., 2007). Ali e colaboradores demonstraram que a administração de um extrato aquoso de gengibre foi capaz de reduzir a expressão da proteína pró-apoptótica Bax e a azotemia de animais tratados com cisplatina (ALI et al., 2014). Kuhad e colaboradores demonstraram que o tratamento com 6-gingerol atenuou a nefrotoxicidade por cisplatina por meio de redução dos níveis de MDA tecidual, aumento dos estoques de GSH e restauração da atividade de SOD e catalase. A administração de 6-gingerol melhorou a função renal com reestabelecimento das concentrações normais de ureia e creatinina e normalização da TFG (KUHAD et al., 2006).

Pelo exposto, concluímos que o gengibre e seus derivados isolados poderiam ser fontes promissoras na busca de alternativas que minimizassem ou resolvessem um importante efeito colateral do tratamento com cisplatina que é a nefrotoxicidade. Dessa forma, temos como hipótese que o 8-gingerol, administrado nesse contexto, poderia reduzir o dano oxidativo e inflamatório provocado pela cisplatina.

2. JUSTIFICATIVA

A cisplatina é um quimioterápico largamente utilizado e tem a nefrotoxicidade como o principal efeito colateral e limitante da dose. Apesar da estratégia de hidratação preventiva preconizada pelas diretrizes clínicas atuais, 10-30% dos pacientes em uso de cisplatina desenvolvem injúria renal aguda (MILLER et al., 2010; KUMAR et al., 2017). Diante da falta de abordagens terapêuticas que previnam eficazmente o desenvolvimento de IRA surge a necessidade de buscar novas drogas que proporcionem proteção renal durante o tratamento.

O modelo de injúria renal induzido por cisplatina constitui uma importante fonte de estudos devido a sua gravidade e relevância clínica. O processo é mediado por diversos mecanismos, entre eles a liberação de radicais livres que lesam o DNA e outros componentes celulares (MANOHAR e LEUNG, 2017). Tendo em vista que o estresse oxidativo desempenha papel fundamental na fisiopatologia da IRA, muita atenção tem sido dada ao papel dos antioxidantes na proteção renal (NASR e SALEH, 2014). A literatura demonstra que muitas substâncias antioxidantes, de origem natural, são capazes de amenizar a lesão renal induzida por cisplatina (OJHA et al., 2016; GÓMEZ-SIERRA et al., 2018).

Embora a maioria dos fármacos não sejam oriundos de plantas e sim sintéticos, a riqueza de compostos presente nas plantas constitui uma fonte inesgotável de futuros fármacos (OJHA et al., 2016). Alguns estudos mostraram que o extrato e o 6-gingerol isolado do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) são capazes de atenuar a nefrotoxicidade induzida por cisplatina por meio da redução da azotemia e do estresse oxidativo (AJITH et al., 2006; KUHAD et al., 2006). No entanto, não há dados sobre o efeito do 8-gingerol nesse modelo.

O estudo desses compostos pode proporcionar terapias alternativas que diminuam o impacto das reações adversas renais pós-tratamento quimioterápico e ajudar na resolução e prevenção de complicações renais. Dessa forma, o presente trabalho buscou confirmar a possível ação protetora do composto 8-gingerol, isolado do gengibre, sobre a lesão renal induzida por cisplatina em camundongos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito nefroprotetor do 8-gingerol isolado de *Zingiber officinale* Roscoe na injúria renal aguda induzida por cisplatina em camundongos utilizando a N-acetilcisteína como droga comparativa padrão.

3.2 Objetivos específicos

- Padronizar o modelo de injúria renal aguda (IRA) induzida por cisplatina e dessa forma determinar a dose capaz de induzir nefrotoxicidade;
- Avaliar os efeitos do 8-gingerol na função renal dos animais tratados com cisplatina por meio de parâmetros bioquímicos clássicos;
- Investigar o efeito protetor tubular do 8-gingerol na IRA induzida por cisplatina;
- Analisar a atividade antioxidante do 8-gingerol frente ao dano oxidativo renal provocado pela cisplatina;
- Avaliar o efeito anti-inflamatório do 8-gingerol nos rins dos animais que receberam cisplatina;
- Verificar as alterações histopatológicas do tecido renal de camundongos na injúria renal induzida por cisplatina e tratados ou não com 8-gingerol;
- Comparar os efeitos nefroprotetores do 8-gingerol com os da N-acetilcisteína na IRA induzida por cisplatina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e Comitê de Ética

Foram utilizados camundongos *Swiss* machos, pesando de 30-35 gramas (n=6 a 8 por grupo), provenientes do biotério setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC. Os animais foram mantidos em caixas, em ambiente com temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$; ciclo 12 horas claro/12 horas escuro, com acesso livre a água e alimento.

Todos os protocolos foram conduzidos de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA-UFC sob o número de **protocolo 59/16**.

4.2 Compostos e Substâncias Utilizadas

O composto 8-gingerol foi adquirido por meio de técnica padronizada de isolamento do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe (UFS) conforme descrito por Silva et al., (2012), e cedido pelo Prof. Dr. James Almada da Silva. Os outros produtos químicos e substâncias aqui mencionadas foram obtidos da Sigma-Aldrich® USA ou Vetec® Brasil.

4.2.1 Preparação dos Compostos

A droga 8-gingerol foi diluída no Tween 80 2% em solução salina 0,9% e aplicada nas doses de 25 e 50 mg/kg. A substância N-acetilcisteína, também diluída no Tween 80 2% em solução salina 0,9%, foi aplicada na dose de 120 mg/kg. Ambas foram administradas por via intraperitoneal.

4.3 Grupos Experimentais

Realizamos dois blocos experimentais. Primeiramente fizemos uma curva dose-resposta para definir a dose de cisplatina a ser utilizada nos demais experimentos. As doses avaliadas foram de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.

Após a definição da dose (20mg/kg), o segundo bloco experimental consistiu no tratamento com o 8-gingerol nas doses de 25 e 50 mg/kg, N-acetilcisteína na dose de 120 mg/kg (controle positivo) ou Tween 80% 2% (controle negativo). Todos por via intraperitoneal.

4.3.1 Curva dose-resposta de cisplatina

- Grupo Controle

- ✓ Os animais (n=7) receberam salina 0,9% por via i.p. conforme descrito no item 4.3, para cada grupo de dose.
- Grupo Cisplatina (5, 12, 20 e 25 mg/kg)
 - ✓ Os animais (n=8) foram submetidos a indução de IRA por CIS conforme descrito no item 4.3, para cada grupo de dose.

4.3.2 *Protocolo Experimental de Tratamento*

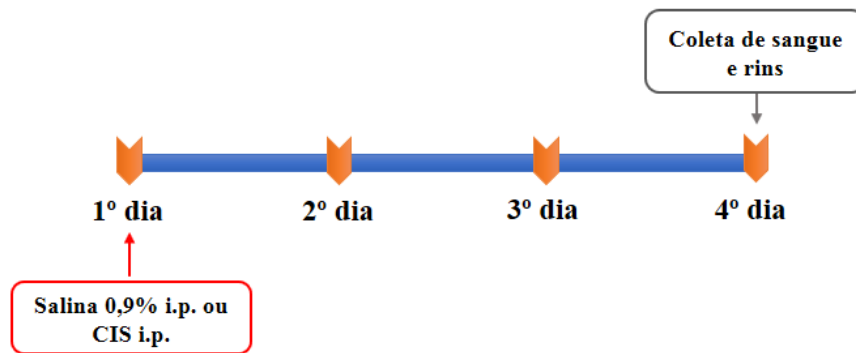
- Grupo Controle
 - ✓ Os animais (n=8) receberam Tween 80 2% por via i.p., uma vez por dia, durante 5 dias. No terceiro dia, uma hora após a última administração, os animais receberam salina 0,9% por via i.p (0,2mL/10g de peso animal).
- Grupo Nefrotoxicidade
 - ✓ Os animais (n=8) receberam Tween 80 2% (0,1mL/10g do peso animal) por via i.p., uma vez por dia, durante 5 dias. No terceiro dia, uma hora após a última administração, os animais receberam cisplatina na dose de 20mg/kg por via i.p (0,2mL/10g de peso animal).
- Grupo Nefrotoxicidade Com Tratamento (N-acetilcisteína)
 - ✓ Os animais (n=7) receberam N-acetilcisteína (0,1mL/10g do peso animal) na dose de 120 mg/kg por via i.p. durante 5 dias. No terceiro dia, uma hora após a última administração, os animais receberam cisplatina na dose de 20mg/kg por via i.p (0,2mL/10g de peso animal).
- Grupo Nefrotoxicidade Com Tratamento (CIS + 8-G)
 - ✓ Os animais receberam 8-gingerol (0,1mL/10g do peso animal) na dose de 25 mg/kg (n= 6) e 50 mg/kg (n= 8) por via i.p. durante 5 dias. No terceiro dia, uma hora após a última administração, os animais receberam cisplatina na dose de 20mg/kg por via i.p (0,2mL/10g de peso animal).

4.4 Desenho Experimental

4.4.1 Curva dose-resposta

Para realização da curva dose-resposta, depois do período de 72 horas pós-indução de IRA os animais foram anestesiados com quetamina 90 mg/Kg e xilazina 7,5 mg/Kg i.p. e eutanasiados por punção cardíaca e hipovolemia. O sangue foi coletado para dosagem de ureia e creatinina e os rins para avaliação das concentrações de GSH, atividade de MPO e análise histopatológica.

Figura 5. Desenho experimental, grupo controle e cisplatina curva dose-resposta



Fonte: autor

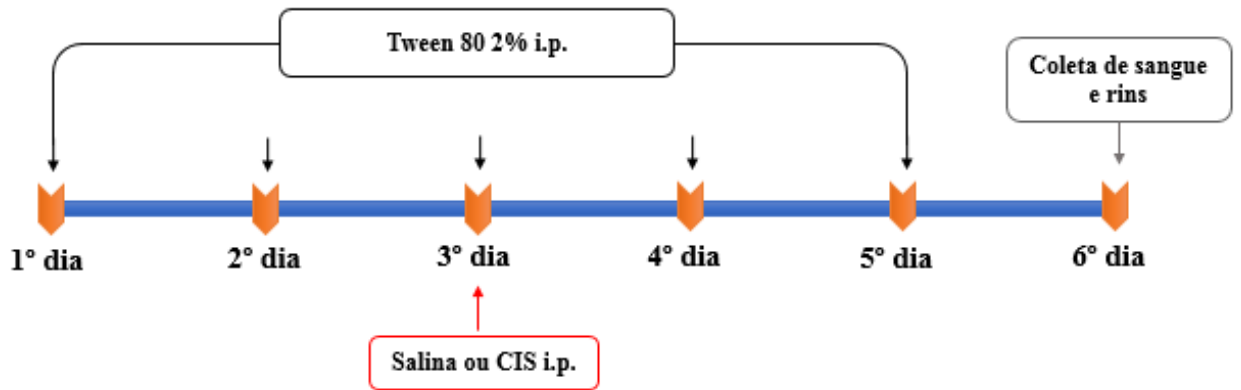
4.4.2 Tratamento

Os animais que receberam o tratamento foram mantidos em gaiolas metabólicas durante todo o experimento. Antes de iniciarmos, os animais foram mantidos na gaiola para adaptação pelo período de 48 horas. Finalizado essa etapa, iniciamos o pré-tratamento com os compostos Tween 80 2%, N-acetilcisteína (120 mg/kg) ou 8-gingerol (25 e 50 mg/kg), uma vez por dia, durante três dias. 1 hora após o último dia de pré-tratamento, os animais receberam cisplatina na dose de 20 mg/Kg. As substâncias N-acetilcisteína e 8-gingerol foram administradas diariamente até o 5º dia de experimento (KUHAD et al., 2006).

No quinto e último dia de tratamento iniciou-se a coleta de urina de 24 horas nas gaiolas. Após esse período, a urina foi quantificada, centrifugada e armazenada. Os animais foram anestesiados com quetamina 90mg/Kg e xilazina 10 mg/Kg i.p e conduzidos para laparotomia seguida da coleta de material biológico. As amostras de sangue, obtidas por punção cardíaca, foram acondicionadas em microtubos contendo heparina 10%. Após centrifugação, o plasma foi separado e armazenado. O rim esquerdo foi coletado e armazenado para quantificação de

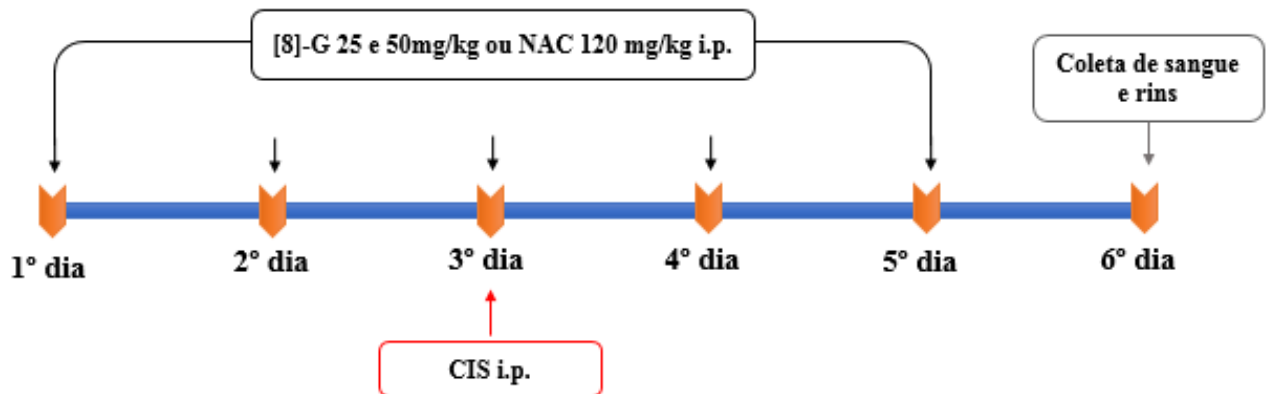
marcadores de dano oxidativo e para ensaios de biologia molecular. Todas as amostras até aqui citadas foram armazenadas em $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. O rim direito foi acondicionado em formol 10% tamponado para análise histopatológica.

Figura 6. Desenho experimental, grupo controle (salina) e IRA (CIS 20mg/kg)



Fonte: autor

Figura 7. Desenho experimental, grupos de tratamento (8-G 25 ou 50 mg/kg ou NAC 120 mg/kg i.p.)



Fonte: autor

4.5 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos

As amostras de plasma foram submetidas a dosagem de creatinina e ureia pelos kits Creatinina-K e Ureia-CE, comercialmente fornecidos pelo fabricante Labtest®. Nas amostras de urina foram dosadas proteína urinária e albumina pelos kits SensiProt e Microalbuminúria dos fabricantes Labtest® e Bioclin®, respectivamente. A creatinina urinária também foi mensurada pelo kit Creatinina-K acima citado. Os protocolos de diagnóstico seguiram as recomendações do fabricante e os resultados foram expressos em mg/24h (albumina e proteína urinária) ou mg/dL (demais testes).

4.6 Cálculo do Clearance de Creatinina

A mensuração da creatinina plasmática e urinária foi realizada por meio do método de Jaffé modificado, utilizando o kit citado anteriormente. 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):

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

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 avaliação do dano tubular verificamos a atividade da enzima Gama Glutamil Transferase na urina dos animais (HENNEMANN et al., 1997; GUIMARÃES, 2000; MELCHERT et al., 2007). Utilizamos o kit comercial Gama GT Liquiform do fabricante Labtest®. Os protocolos de diagnóstico seguiram as recomendações do fabricante e os resultados foram obtidos em U/L e expressos U/mg de creatinina. Segundo 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

4.9.1 Atividade de Mieloperoxidase (MPO)

A atividade de (MPO) consiste em um marcador de invasão leucocitária no tecido. Uma parte das amostras do tecido renal foi pesada e homogeneizada com brometo de hexadecitrimetilamônio a 0,5% (HTAB; pH 6,0) em tampão de fosfato de potássio para preparar um homogenato 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 MPO foi aferida utilizando peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 1% como substrato para essa enzima. Durante o ensaio, à medida que o H₂O₂ é degradado, ocorre a produção de ânion superóxido, responsável pela conversão de o-dianosidina em um composto de cor marrom (BRADLEY et al., 1982). Os resultados foram expressos em unidades de MPO por miligramas (UMPO/mg de tecido).

4.9 Avaliação do dano oxidativo

4.9.1 Dosagem de Malondialdeído (MDA) urinário

O MDA é um produto da peroxidação lipídica e pode ser detectado a partir da sua reação com o ácido tiobarbitúrico.

A dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) na urina consistiu na adição de 100 µL da amostra a 150 µL de H₂O. A essa diluição foi acrescentado 250 µL de TCA 17,5% e 250 µL de ácido tiobarbitúrico (0,6% pH=2). Todos os tubos com a solução foram mantidos em gelo durante essa primeira etapa do processo. A solução foi homogeneizada e depois colocada em água fervente (100 °C) durante 20 minutos para reação com ácido tiobarbitúrico. Posteriormente foi retirada do banho-maria e resfriada em gelo. Em seguida foi adicionado 250 µL de TCA 70% (ácido tricloroacético). A solução foi homogeneizada e incubada durante 20 minutos com o tubo tampado. Ao final, a solução foi centrifugada por 15 minutos a 3000 r.p.m e a leitura foi realizada em espectrofotometria em absorbância de 534 nm (WALKER e SHAH, 1990). A fim de corrigir a variação dos volumes urinários os valores foram expressos em nmol de TBARS/mg de creatinina (ZHOU et al., 2006; FRANCESCATO et al., 2009)

4.10 Avaliação da Atividade Antioxidante

4.10.1 Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)

O princípio do teste consiste na utilização do DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis-[2-

nitrobenzoico]), usado para analisar as concentrações de GSH em amostra de tecidos. O DTNB reage com GSH formando o ácido 2-nitro-5-mercaptop-benzoico (TNB) de cor amarela que pode ser detectado por espectrofotometria (SEDLAK e LINDSAY, 1968).

Para avaliação das alterações no conteúdo tecidual de glutathiona reduzida foi utilizado um homogenato a 10% em solução gelada de EDTA 0,02M 100 µL de cada amostra (homogenato a 10% em tampão fosfato) foi colocado em tubo de ensaio e adicionado 80 µL de água destilada+20 µL de TCA 50%. O material foi misturado num vórtex e centrifugado a 3000 g por 10 min. Seguidamente, 100µL do sobrenadante foi retirado e colocado em outro tubo, para ser adicionado 200 µL de tampão tris 0,4M (ph 8,9) + 5 µL de solução de DTNB. Todo o ensaio foi avaliado na absorbância de 412 nm e os resultados foram expressos em µg/mg de tecido.

4.11 Análise Histopatológica

Para realização do estudo histopatológico, as amostras de rins foram fixadas em uma solução de formol 10% tamponado por 48 horas. Percorrido esse período, foram seccionadas, armazenadas em cassetes e novamente transferidas para formol 10% tamponado onde permaneceram até a realização dos procedimentos histológicos.

Posteriormente o material foi processado para realização do exame histológico em processador automático de tecidos (histotécnico). Em seguida foram desidratados em concentrações crescentes de 70 a 100% de etanol. Após o processamento foi realizado a inclusão do material em parafina, utilizando-se o banho histológico. Os blocos de parafina foram cortados em 5µm de espessura com auxílio de um micrótomo de impacto e colocado em lâmina histológica para coloração pela técnica de hematoxilina e eosina (HE).

As lâminas foram analisadas à microscopia óptica por histopatologista habilitado. Para os grupos do segundo bloco experimental (tratamento com 8-G e NAC) foi feita a análise 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 (-), leve (+), moderado (++) e grave (+++). As análises foram baseadas no trabalho de Kuhad e colaboradores (KUHAD et al., 2006).

4.12 Avaliação de Marcadores por PCR Quantitativo em Tempo Real

4.12.1 *Extração do RNA total*

As amostras foram congeladas a -80 °C até o momento da extração. Realizou-se um homogenato, onde cada tecido foi posto em contato com uma esfera de metal e congelada em -80 °C por 3 minutos. A extração de RNA foi realizada de acordo com o protocolo do PureLink® RNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Após a finalização do processo de extração, 1µL de RNA total de cada amostra foi dosado pelo Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos) com a finalidade de verificar qualidade das amostras e quantificar suas concentrações para fornecer RNA para transcrição em DNA complementar (cDNA).

4.12.2 *Síntese de cDNA*

O RNA total isolado armazenado a -80 °C seguiu para a síntese de cDNA através do GoScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad®, Califórnia, 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 iCycler® (Bio-Rad, Califórnia, Estados Unidos) 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).

4.12.3 *PCR quantitativo em tempo real (qPCR)*

A transcrição relativa dos genes GsR, KIM-1, NGAL e IL-1β foi realizada através do equipamento CFX96 Touch® (Bio-Rad®, Califórnia, EUA). Como mostra a Tabela 2, a sequência dos iniciadores de DNA (primers) dos genes investigados foi obtida no sítio eletrônico do National Center for Biotechnology Information (NCBI), no qual o gene de referência utilizado foi o GAPDH (Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase).

Tabela 2. Sequência de iniciadores e condições de PCR para os genes avaliados (S: senso e AS: antisenso; gene de referência: GAPDH).

Gene	Sequência dos iniciadores	Nº NCBI
KIM-1	S - TGGTTGCCTTCCGTGTCTCT	NM_134248.2
	AS - TCAGCTCGGGAATGCACAA	
NGAL	S - ATTGTCACCTCCATCCTGGT	NM_00849.1
	AS - ATTTCCAGAGTGAAGTGGC	
GsR	S - AAGCGCTTCTACCCCAGTT	NM_010344.4
	AS - GGGTGGCTGAAGACCACAGTA	
IL-1β	S- CAACCAACAAGTGATATTCTCCATG	NM_008361.4
	AS- GATCCACACTCTCCAGCTGCA	
GAPDH	S- AGCCTCGTCCCGTAGACAAA	NM_008084.3
	AS- TGAATTTGCCGTGAGTGGAG	

Fonte: autor. KIM-1: molécula de injúria renal-1 (*kidney injury molecule-1*), NGAL: lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*), GsR: glutatona redutase, IL-1 β : Interleucina-1 β , GAPDH: Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase.

Para a reação foram utilizados 5 μ L de GoTaq® qPCRMaster Mix (Promega, Wisconsin, EUA), 1,0 μ L de cada iniciador (0,2 μ M) e 1,0 μ L de cDNA das amostras, completando com água livre de nuclease até um volume final de 10 μ 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. 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 0,05°C a cada 5 segundos iniciando em 60°C até 95 °C. Os dados foram obtidos com o software do sistema CFX96 (BioRad®, Califórnia, 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).

4.13 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o software GraphPadPrism®, versão 5.0. Para a curva dose-resposta realizou-se o teste t de Student. Para os grupos de tratamento realizou-se o teste de comparações múltiplas por meio de análise de variância (ANOVA) seguido do teste Bonferroni's (dados paramétricos) ou aplicação do teste Kruskal-Wallis seguido do pós-teste Dunn's (dados não paramétricos). E os dados de qPCR foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão médio (E.P.M) ou valor mediano, máximo e mínimo. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

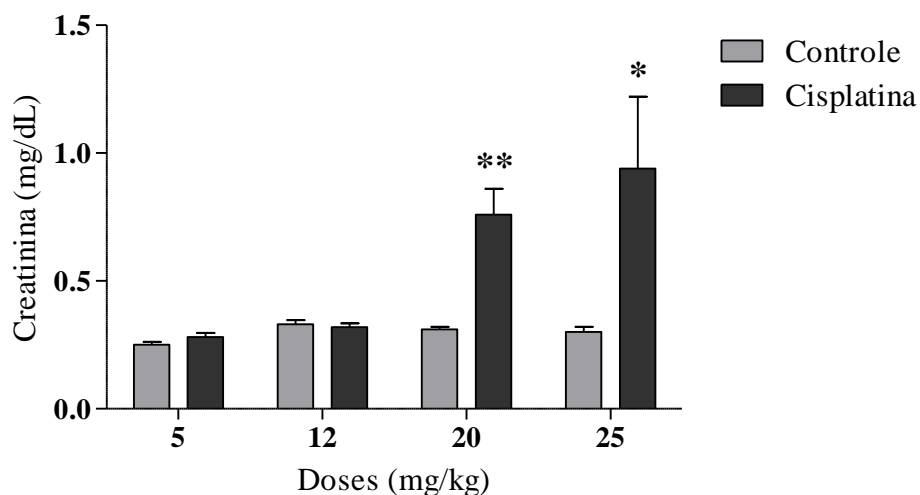
5.1 Curva dose-resposta de Cisplatina

Fizemos inicialmente uma curva dose-resposta para escolher a dose de cisplatina capaz de induzir IRA nos animais. As doses testadas foram 5, 12, 20 e 25 mg/kg administradas por via intraperitoneal (i.p.) em dose única. Os resultados a seguir apresentam os dados encontrados e justificam a escolha da dose de cisplatina utilizada no tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína.

5.1.1 Determinação de parâmetros bioquímicos plasmáticos

Conforme a **Figura 8**, não foram observadas diferenças significativas na concentração de creatinina plasmática entre o grupo tratado com cisplatina na dose de 5mg/kg ($0,28 \pm 0,017$ mg/dL) e 12mg/kg ($0,32 \pm 0,014$ mg/dL) em relação aos seus respectivos controles ($0,25 \pm 0,012$ mg/dL e $0,33 \pm 0,017$ mg/dL, respectivamente). No entanto, houve aumento significativo ($P < 0,05$) das concentrações séricas dos animais que receberam cisplatina na dose de 20mg/kg ($0,76 \pm 0,10$ mg/dL) e 25 mg/kg ($0,94 \pm 0,28$ mg/dL) quando comparadas aos seus controles ($0,31 \pm 0,011$ mg/dL e $0,30 \pm 0,02$ mg/dL, respectivamente).

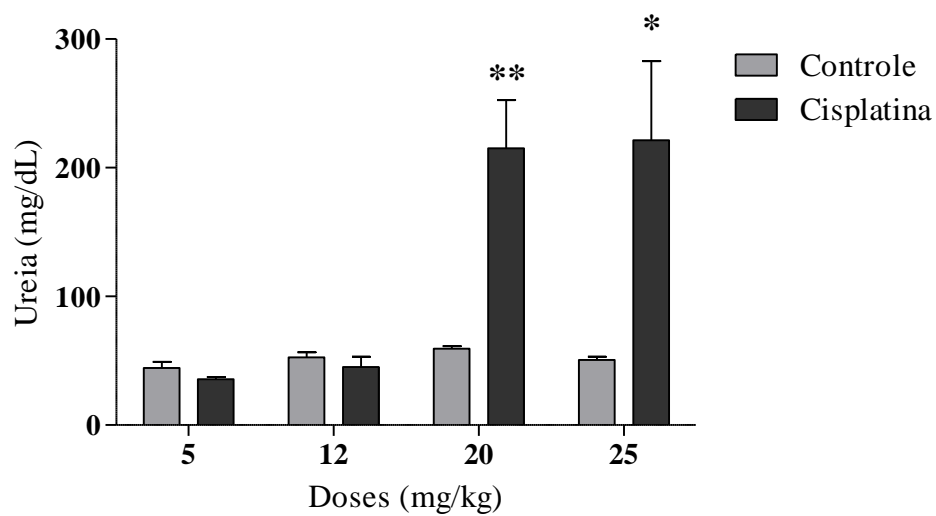
Figura 8. Avaliação dos níveis séricos de creatinina na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.



Os valores representam a média \pm erro padrão dos níveis séricos de creatinina na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg. * $P < 0,05$ ou ** $P < 0,01$ em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% via i.p. A análise estatística foi feita pelo teste t de Student.

Como mostra a **Figura 9**, não houve diferença nos valores de ureia sérica dos animais que receberam cisplatina na dose de 5mg/kg ($35,5 \pm 1,78$ mg/dL) e 12mg/kg ($45,6 \pm 8,09$ mg/dL) quando comparadas aos grupos controle de 5mg/kg ($44,3 \pm 4,62$) e 12mg/kg ($52,6 \pm 4,09$ mg/dL). Porém, observamos elevação nos tratados com cisplatina ($P < 0,05$) na dose de 20mg/kg ($215,6 \pm 37,53$ mg/dL) e 25 mg/kg ($221,4 \pm 61,35$ mg/dL) comparativamente aos seus respectivos controles ($59,4 \pm 1,96$ mg/dL e $50,7 \pm 2,47$ mg/dL).

Figura 9. Avaliação dos níveis séricos de ureia na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.

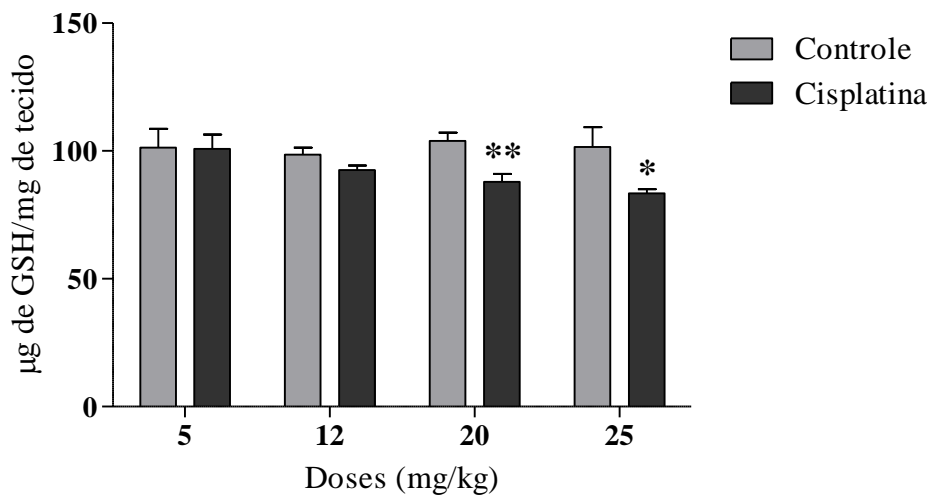


Os valores representam a média \pm erro padrão dos níveis séricos de ureia na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg. * $P < 0,05$ ou ** $P < 0,01$ em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% via i.p. A análise estatística foi feita pelo teste t de Student.

5.1.2 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) no tecido renal.

Como observado na **Figura 10** não houve diferença nas concentrações de GSH no tecido renal dos animais tratados com as doses de 5mg/kg ($100,8 \pm 5,59 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) e 12mg/kg ($92,58 \pm 1,68 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) de cisplatina quando comparados com seus controles ($101,3 \pm 7,34 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido e $98,6 \pm 2,69 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido, respectivamente). Contudo, houve redução dos valores ($P < 0,05$) nos grupos que receberam 20mg/kg ($87,8 \pm 3,12$) e 25 mg/kg ($83,5 \pm 1,55 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) em relação aos respectivos controles ($103,9 \pm 3,25$ e $101,5 \pm 7,7 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido).

Figura 10. Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.

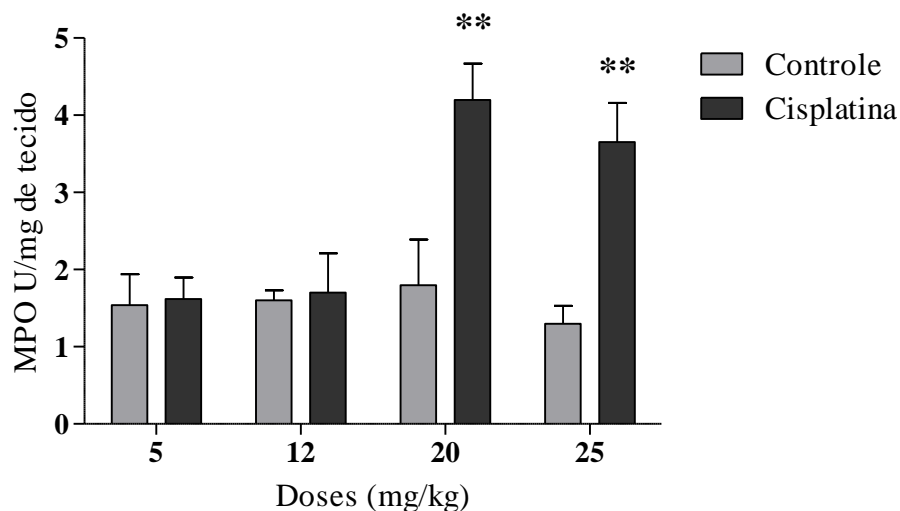


Os valores representam a média \pm erro padrão dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg. * $P < 0,05$ ou ** $P < 0,01$ em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% via i.p. A análise estatística foi feita pelo teste t de Student.

5.1.3 Determinação da atividade de mieloperoxidase (MPO) no tecido renal.

De acordo com a **Figura 11**, não houve diferença na atividade de MPO no tecido renal dos camundongos que receberam cisplatina nas doses de 5mg/kg ($1,62 \pm 0,28$ UMPO/mg de tecido) e 12mg/kg ($1,7 \pm 0,51$ UMPO/mg de tecido) quando comparados ao grupo controle ($1,54 \pm 0,4$ e $1,60 \pm 0,13$ UMPO/mg de tecido, respectivamente). No entanto, observamos aumento ($P < 0,01$) nos animais tratados com as doses de 20mg/kg ($4,20 \pm 0,47$ UMPO/mg de tecido) e 25 mg/kg ($3,65 \pm 0,51$ UMPO/mg de tecido) em relação aos seus respectivos controles ($1,8 \pm 0,59$ e $1,3 \pm 0,23$ UMPO/mg de tecido).

Figura 11. Avaliação da atividade de mieloperoxidase (MPO) em tecido renal na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg.

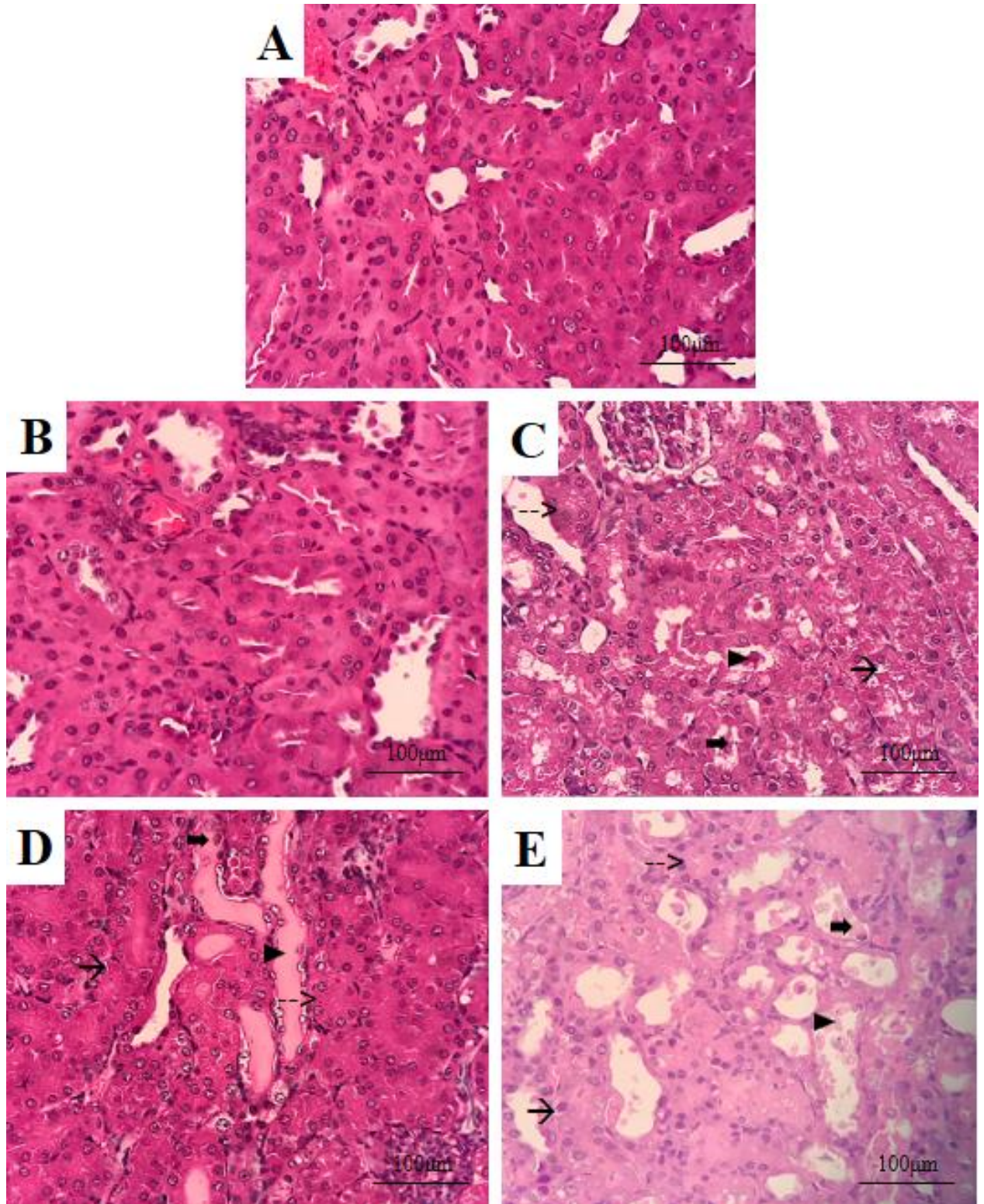


Os valores representam a média \pm erro padrão da atividade de mieloperoxidase (MPO) na IRA induzida por CIS em camundongos, nas doses de 5, 12, 20 e 25 mg/kg. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo controle tratado com salina 0,9% via i.p. A análise estatística foi feita pelo teste t de Student.

5.1.4 Avaliação histopatológica do tecido renal

A análise histopatológica do tecido renal revelou estrutura preservada, onde se visualizam córtex e medula com distribuição normal das estruturas tubulares e glomerulares em todos os grupos controle e lesão. Nos animais controle e naqueles que receberam cisplatina na dose de 5mg/kg, as secções histológicas apresentaram leve tumefação do epitélio tubular, discreta ectasia intersticial e raros túbulos levemente dilatados contendo no lúmen células epiteliais descamadas. Os demais grupos apresentaram discreta ectasia intersticial além de moderada tumefação e vacuolização difusa do epitélio tubular. Também se observou número moderado de túbulos dilatados contendo, no lúmen, acúmulo de material eosinofílico amorfo de aspecto proteináceo, além de túbulos e células epiteliais degeneradas.

Figura 12. Imagens representativas das alterações histológicas dos tecidos renais dos camundongos que receberam cisplatina nas doses 5, 12, 20 e 25 mg/kg i.p e do grupo controle, processadas pela técnica hematoxilina-eosina (HE).



A) grupo controle; B) grupo CIS 5mg/kg; C) grupo CIS 12 mg/kg; D) grupo CIS 20mg/kg e E) grupo CIS 25 mg/kg. → vacuolização, ---> tumefação, ▶ acúmulo de material eosinofílico amorfo de aspecto proteináceo, ➡ células epiteliais degeneradas.

5.2 Tratamentos com 8-gingerol e N-acetilcisteína

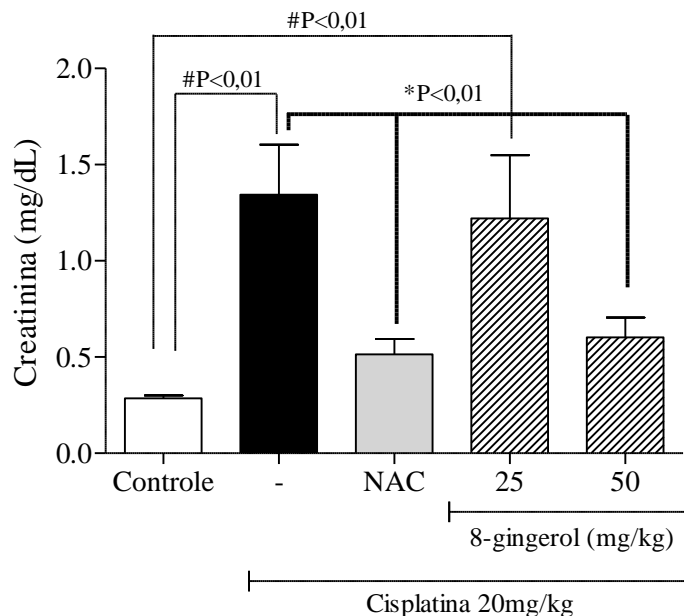
Após determinar a dose de cisplatina a ser utilizada (20mg/kg) e caracterizar o modelo de IRA, em outro momento, com um novo grupo de animais iniciamos o tratamento com N-acetilcisteína (NAC) na dose de 120 mg/kg e com 8-gingerol (8-G) nas doses de 25 e 50 mg/kg. Os dados a seguir representam os resultados obtidos.

5.2.1 Análise da Função Renal

A função renal foi analisada por meio das dosagens de creatinina e ureia plasmática e da estimativa da taxa de filtração glomerular por meio cálculo do *clearance* de creatinina.

De acordo com a **Figura 13**, a administração de CIS 20mg/kg ($1,3 \pm 0,26$ mg/dL) aumentou significativamente as concentrações de creatinina plasmática quando comparadas às do grupo controle ($0,28 \pm 0,01$ mg/dL). O tratamento com 8-G 25 mg/kg ($1,2 \pm 0,33$ mg/dL) não foi capaz de reduzir esses valores que permaneceram diferentes do grupo salina. Já os animais tratados com 8-G 50 mg/kg ($0,6 \pm 0,10$ mg/dL) e com NAC 120 mg/kg ($0,5 \pm 0,08$ mg/dL) apresentaram redução significativa quando comparados aos animais do grupo CIS.

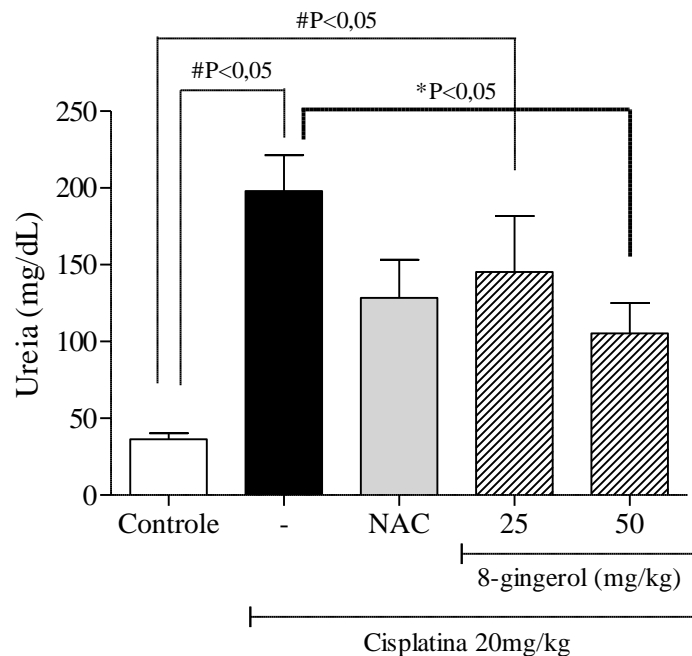
Figura 13. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nos níveis séricos de creatinina na IRA induzida por cisplatina.



Os valores representam a média \pm erro padrão dos níveis séricos de creatinina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). *P<0,01 em relação ao grupo CIS. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

Como mostra a **Figura 14**, houve aumento nos valores de ureia plasmática dos animais que receberam CIS 20mg/kg ($198,0 \pm 23,2$ mg/dL) em relação ao grupo controle ($35,4 \pm 3,87$ mg/dL). A administração de 8-G 25 mg/kg ($145,4 \pm 36,4$ mg/dL) não diminuiu esses valores, permanecendo, assim, diferente do controle. Por outro lado, o tratamento com 8-G na dose de 50 mg/kg ($105,3 \pm 19,72$ mg/dL) reduziu significativamente a ureia sérica quando comparado ao grupo CIS. E não observamos diferença nos valores do grupo tratado com NAC 120 mg/kg ($128,5 \pm 24,7$ mg/dL) quando comparamos aos grupos controle e CIS.

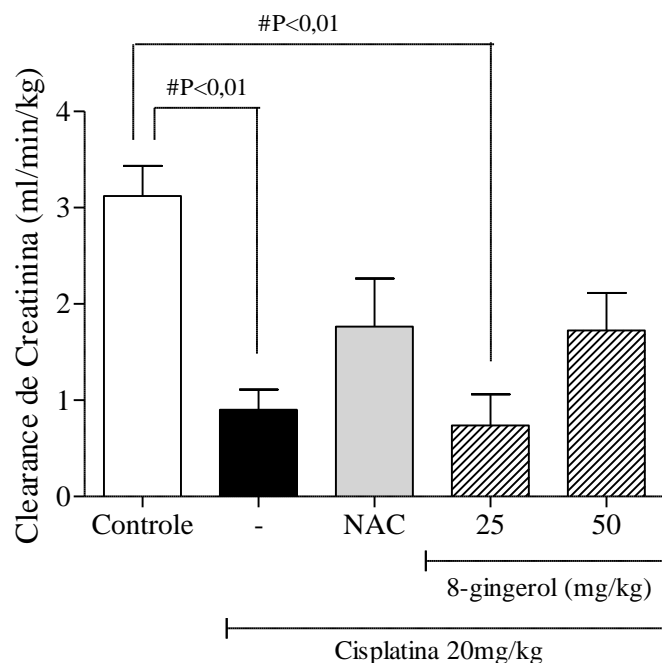
Figura 14. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nos níveis séricos de ureia na IRA induzida por cisplatina.



Os valores representam a média \pm erro padrão dos níveis séricos de creatinina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,05 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). *<0,01 em relação ao grupo CIS. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

Segundo a **Figura 15**, houve redução do *clearance* de creatinina no grupo CIS 20mg/kg ($0,9 \pm 0,21$ ml/min/kg) quando comparado com o controle ($3,1 \pm 0,31$ ml/min/kg). O tratamento com 8-G 25 mg/kg ($0,7 \pm 0,32$ ml/min/kg) não demonstrou aumentar esses valores, que permaneceram diferentes do grupo salina. Por outro lado, não houve diferença no tratamento com 8-G 50 mg/kg ($1,72 \pm 0,3$ ml/min/kg) e NAC 120 mg/kg ($1,76 \pm 0,5$) em relação aos grupos controle e CIS.

Figura 15. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na Taxa de Filtração Glomerular na IRA induzida por cisplatina.

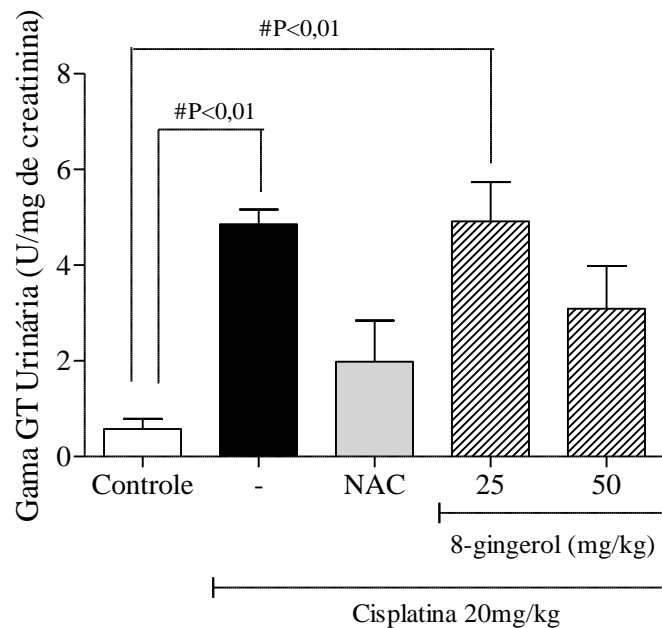


Os valores representam a média \pm erro padrão *clearance* de creatinina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

5.2.2 Análise do dano tubular

O dano tubular foi analisado pela excreção/atividade da enzima gama glutamil transferase (gama-GT) na urina. Como demonstrado na **Figura 16**, houve aumento para os animais que receberam apenas CIS 20mg/kg ($4,86 \pm 0,30$ U/mg de creatinina) em relação ao grupo controle ($0,57 \pm 0,21$ U/mg de creatinina). O tratamento com 8-G 25mg/kg ($4,9 \pm 0,82$ U/mg de creatinina) não foi capaz de diminuir este parâmetro, que permaneceu diferente do grupo salina. Não houve mudança significativa nos valores urinários dos animais que receberam tratamento com 8-G na dose de 50 mg/kg ($3,10 \pm 0,89$ U/mg de creatinina) e NAC 120 mg/kg ($1,98 \pm 0,86$ U/mg de creatinina) quando comparados aos grupos controle e cisplatina.

Figura 16. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de Gama glutamil transferase (Gama-GT) na IRA induzida por cisplatina.

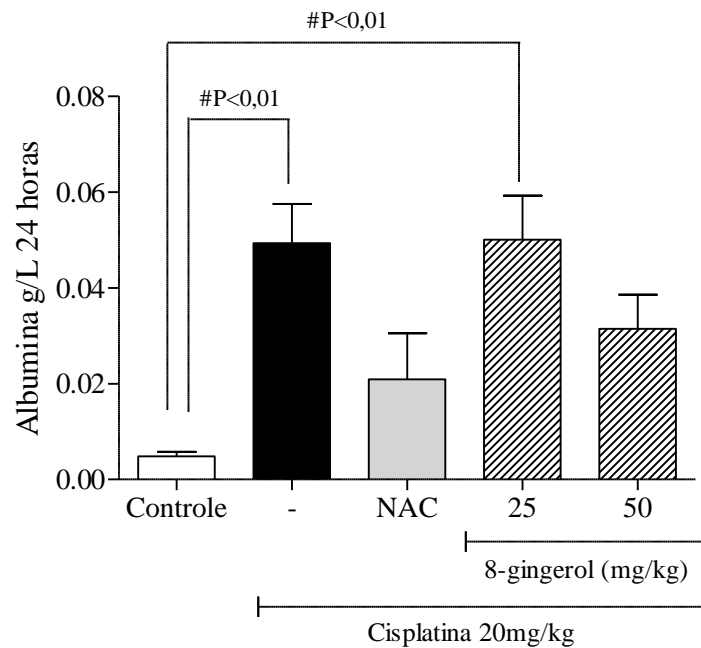


Os valores representam a média \pm erro padrão da atividade de Gama-GT urinária após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

5.2.3 Análise de albuminúria e proteinúria

Avaliamos a perda de albumina urinária. Como apresentado na **Figura 17**, houve aumento da excreção de albumina na urina dos animais que receberam apenas CIS 20mg/kg ($0,049 \pm 0,008$ mg/24h) quando comparado ao grupo controle ($0,004 \pm 0,0009$ mg/24h). O tratamento com 8-G 25 mg/kg ($0,05 \pm 0,009$ mg/24h) não foi capaz de reduzir essa excreção, que permaneceu diferente do grupo controle. Os animais tratados com 50 mg/kg ($0,03 \pm 0,007$ mg/24h) e NAC 120 mg/kg ($0,02 \pm 0,009$ mg/24h) não apresentaram alterações quando comparados aos grupos controle e cisplatina.

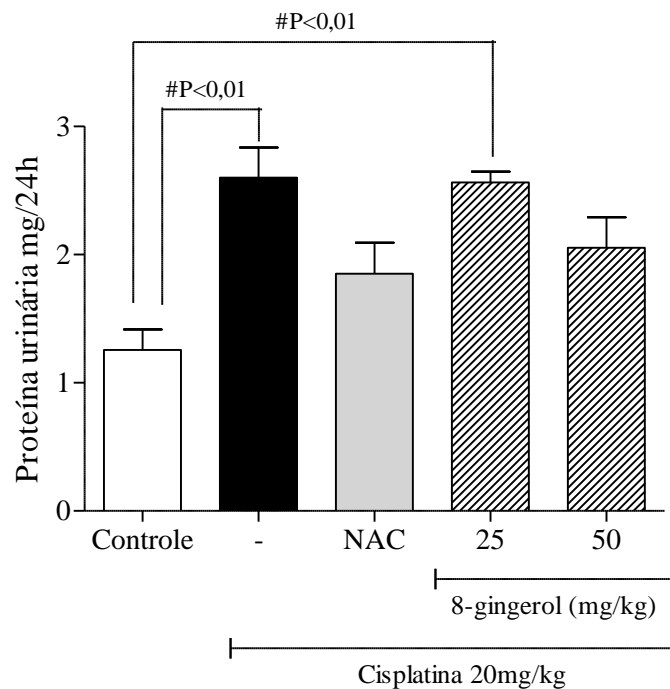
Figura 17. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de albumina na IRA induzida por cisplatina.



Os valores representam a média \pm erro padrão da concentração de albumina na urina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

Nota-se na **Figura 18** que o grupo lesão, que recebeu apenas CIS na dose de 20mg/kg ($2,6 \pm 0,24$ mg/24h), apresentou uma perda significativa de proteína na urina quando comparado ao grupo controle ($1,25 \pm 0,81$ mg/24h). O tratamento com 8-G na dose de 25 mg/kg ($2,5 \pm 0,08$ mg/24h) não preveniu essa perda e os valores continuaram diferentes do grupo controle. Não houve diferença entre os grupos que receberam o tratamento com 8-G na dose de 50 mg/kg ($2,05 \pm 0,23$ mg/24h) e NAC 120 mg/kg ($2,0 \pm 0,24$ mg/24h) quando comparados aos grupos controle e CIS.

Figura 18. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de proteína na IRA induzida por cisplatina.

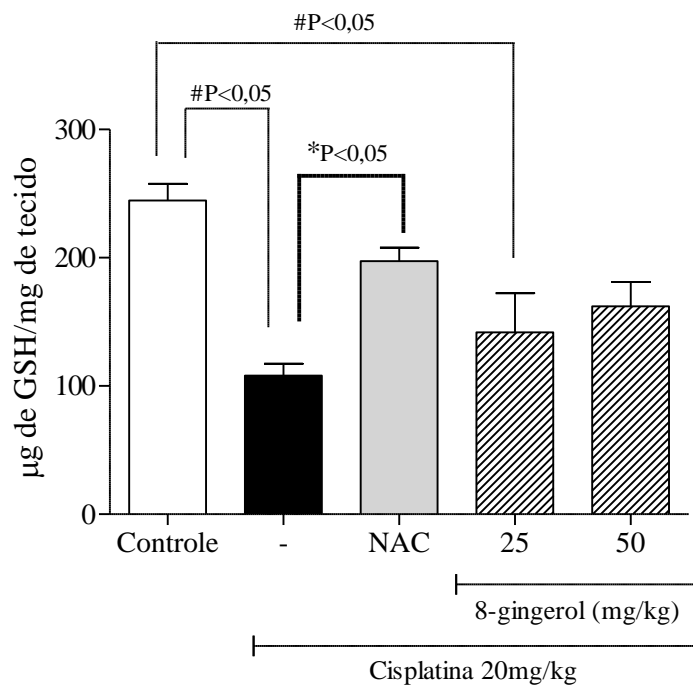


Os valores representam a média \pm erro padrão da concentração de proteína na urina após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

5.2.4 Avaliação do dano oxidativo

Para avaliar a extensão do dano oxidativo medimos a concentração de glutatona reduzida (GSH) no tecido renal e a excreção de malondialdeído (MDA) na urina. Como exposto na **Figura 19**, os animais que receberam apenas CIS 20mg/kg ($108,1 \pm 9,3$ μg de GSH/mg de tecido) tiveram seus níveis de GSH reduzidos em relação ao grupo controle ($244,6 \pm 13,2$ μg de GSH/mg de tecido). O tratamento com 8-G 25 mg/kg ($141,8 \pm 30,6$ μg de GSH/mg de tecido) não aumentou o estoque renal de GSH, que continuou diferente do grupo salina. Os animais tratados com NAC 120 mg/kg ($197,3 \pm 10,44$ μg de GSH/mg de tecido) tiveram o GSH aumentado em relação ao grupo CIS. Não houve alteração no grupo tratado com 8-G 50 mg/kg ($162,2 \pm 19,0$ μg de GSH/mg de tecido).

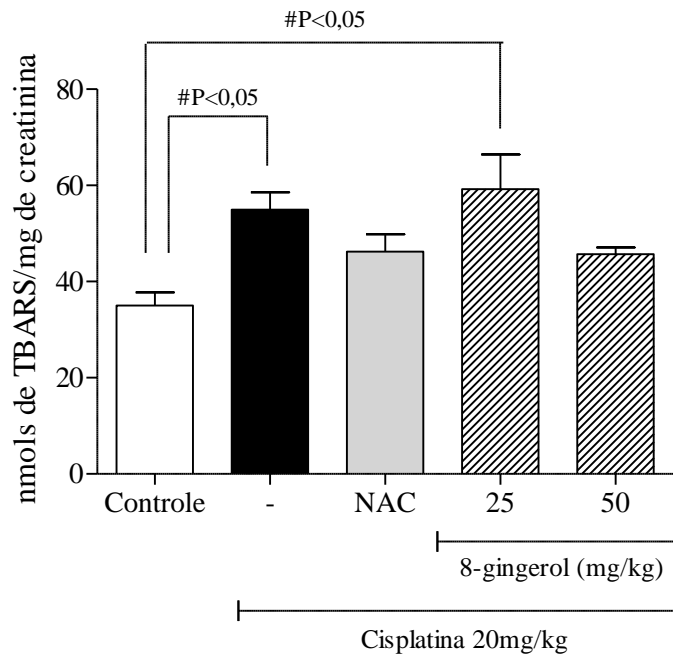
Figura 19. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nos níveis de glutatona reduzida (GSH) na IRA induzida por cisplatina.



Os valores representam a média \pm erro padrão da concentração de GSH no tecido renal após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). *P<0,01 em relação ao grupo CIS. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

A concentração de MDA, conforme a **Figura 20**, aumentou na urina do grupo que recebeu apenas CIS 20mg/kg ($54,95 \pm 3,6$ nmol/mg de creatinina) quando comparado ao grupo controle ($35,0 \pm 2,7$ nmol/mg de creatinina). O grupo que recebeu 8-G 25 mg/kg ($59,2 \pm 7,2$ nmol/mg de creatinina) não demonstrou redução desse parâmetro, que permaneceu alterado em relação ao controle. Não houve alterações significativas no grupo tratado com 8-G 50 mg/kg ($45,7 \pm 1,4$ nmol/mg de creatinina) e com NAC 120 mg/kg ($46,2 \pm 3,6$ nmol/mg de creatinina) quando comparados aos grupos controle e cisplatina.

Figura 20. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína nas concentrações urinárias de malondialdeído (MDA) na IRA induzida por cisplatina.

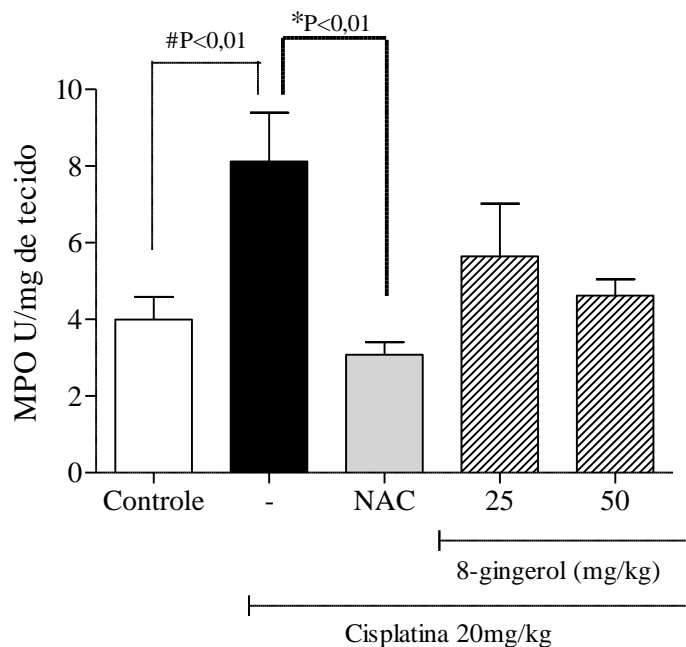


Os valores representam a média \pm erro padrão do MDA urinário após a indução de IRA por cisplatina e o tratamento com 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,01 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

5.2.5 Avaliação da inflamação

De acordo com a **Figura 21** houve aumento na atividade de MPO no tecido renal do grupo lesão que recebeu apenas CIS ($8,11 \pm 1,27$ UMPO/mg de tecido) quando comparado ao grupo controle ($4,00 \pm 0,59$ UMPO/mg de tecido). Houve redução para o grupo que recebeu NAC 120 mg/kg ($3,07 \pm 0,32$ UMPO/mg de tecido) em comparação ao grupo CIS. Os animais tratados com 8-G nas doses de 25 ($5,6 \pm 1,37$ UMPO/mg de tecido) e 50 mg/kg ($4,61 \pm 0,43$ UMPO/mg de tecido) não apresentaram alterações em relação aos grupo controle ou CIS.

Figura 21. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na atividade de mieloperoxidase (MPO) na IRA induzida por cisplatina.



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 8-G (25 e 50 mg/kg) e NAC (120 mg/kg). #P<0,05 em relação ao grupo controle (tratado com Tween 80 2% via i.p). *<0,01 em relação ao grupo CIS. A análise foi realizada pelo teste 1way ANOVA seguido por pós-teste Bonferroni's.

5.2.6 Avaliação histopatológica do tecido renal

A análise histopatológica do tecido renal revelou, no grupo controle, estrutura glomerular, arquitetura cortical e medular preservadas, túbulos com morfologia normal contendo células epiteliais preservadas, além de discreta e focal tumefação epitélio tubular e leve ectasia, como pode ser visualizado na **Figura 22A**. A análise dos scores revelou poucas alterações para esse grupo.

De acordo com a **Figura 22B**, o grupo lesão, que recebeu apenas cisplatina, também revelou estruturas glomerulares preservadas, porém com perda de arquitetura cortical. Observou-se, na maioria dos casos, marcante tumefação e vacuolização do epitélio tubular, ductos dilatados contendo acúmulos de remanescentes celulares eosinofílicos luminiais, degeneração e necrose de células epiteliais tubulares e ectasia. E como demonstrado na **Tabela 3**, a maioria dos parâmetros analisados mostrou score de dano acentuado.

Os grupos tratados com 8-gingerol nas doses de 25 e 50 mg/kg foram descritos com as mesmas alterações encontradas no grupo lesão, conforme mostrado na **Figura 22C** e **Figura 22D**, respectivamente. Quanto a intensidade, a análise de scores revelou uma atenuação nos critérios de necrose epitelial e dilatação tubular.

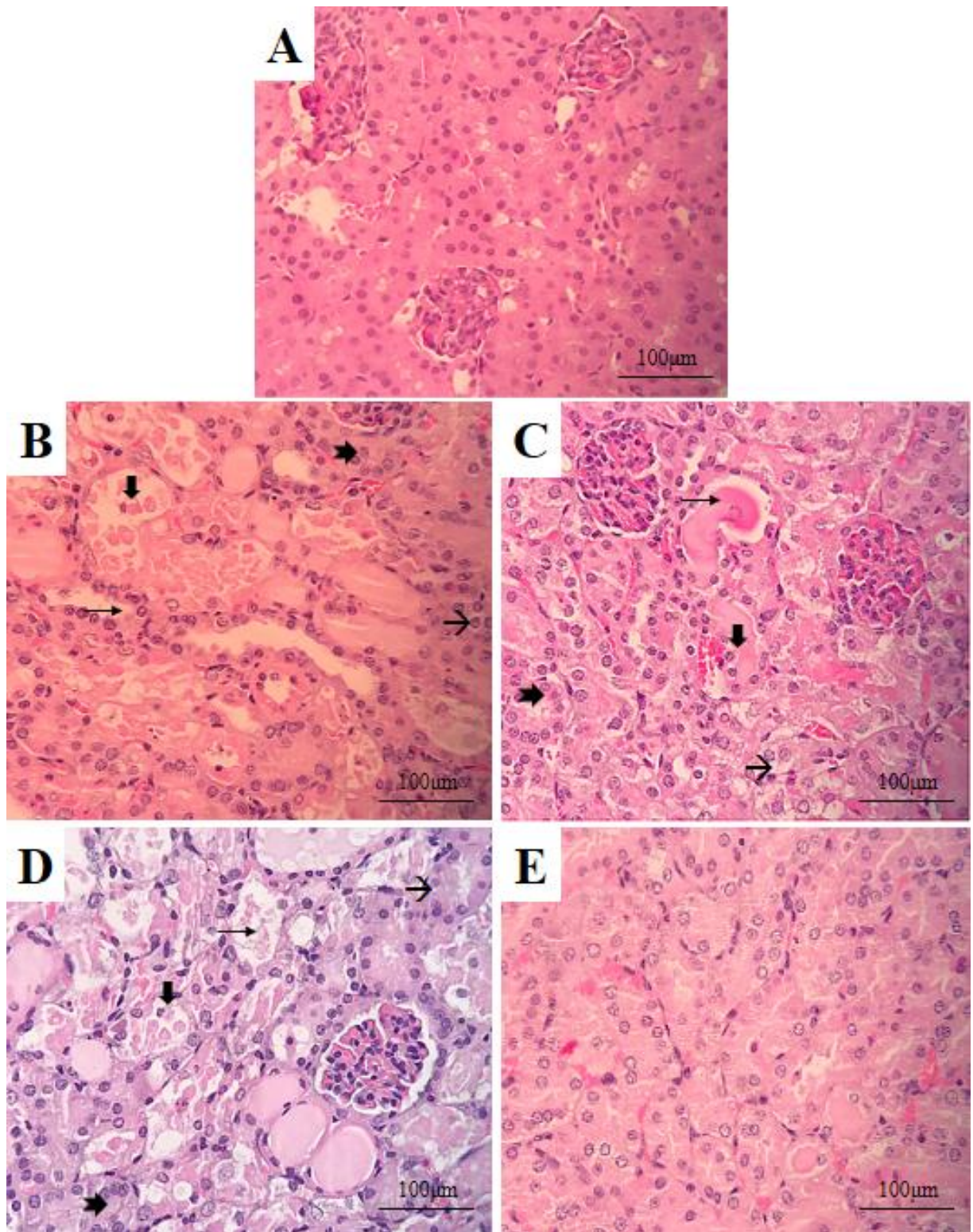
O tratamento com N-acetilcisteína 120 mg/kg foi capaz de amenizar os danos induzidos pela cisplatina. Conforme demonstrado na **Figura 22E**, os animais desse grupo evidenciaram estruturas glomerulares preservadas, porém com discreta perda de arquitetura cortical. Na maioria dos casos observou-se, marcante tumefação e vacuolização do epitélio tubular, porém, uma menor quantidade de ductos dilatados contendo acúmulos eosinofílicos luminiais, além de poucos focos com degeneração e necrose de células epiteliais tubulares e ectasia. Os scores das alterações provocadas pela CIS também foram diminuídos nesse grupo.

Tabela 3. Análise microscópica dos grupos tratados com 8-gingerol (25 e 50mg/kg) e N-acetilcisteína 120 mg/kg (NAC) na nefrotoxicidade induzida por cisplatina (CIS).

Grupos	Perda de borda em escova	Edema intersticial	Dilatação tubular	Necrose epitelial	Elencos hialinos	Infiltrado inflamatório
Controle	+	+	-	-	-	-
CIS	+++	++	+ +/-	+++	++	+
NAC	+ +/-	+	+/-	+	+	+
8-G 25	+++	++	++	+/-	++	+/-
8-G 50	+++	++	++	+/-	++	+/-

Os valores representam a média dos scores microscópicos das alterações morfológicas nos tecidos de animais após a indução da IRA por CIS e tratados com 8-gingerol e NAC por via i.p. Os símbolos +/- e +/- representam dano entre leve e moderado e entre moderado e grave, respectivamente.

Figura 22. Imagens representativas das alterações histológicas dos tecidos renais dos camundongos tratados com cisplatina, 8-gingerol e N-acetilcisteína.



A) grupo controle; B) grupo CIS 20mg/kg; C) grupo tratado com 8-G 25 mg/kg; D) grupo tratado com 8-G 50 mg/kg e E) grupo tratado com NAC 120 mg/kg. → vacuolização, ↗ tumefação, ↗ ductos dilatados contendo acúmulos de remanescentes celulares eosinofílicos luminiais, ↘ degeneração e necrose de células epiteliais tubulares.

5.2.7 Avaliação da expressão gênica de GsR, KIM-1, NGAL e IL-1 β

A **Figura 23A** mostra que a expressão gênica de GsR foi reduzida no grupo CIS ($0,44 \pm 0,11$) em relação ao grupo controle ($1,27 \pm 0,21$). A administração de 8-G 25 mg/kg ($0,41 \pm 0,13$) não foi capaz de melhorar essa expressão que permaneceu diminuída. Porém, houve aumento para no grupo NAC ($9,95 \pm 1,3$), mas não foi alterado após o tratado com 8-G 50 mg/kg ($0,93 \pm 0,18$) quando comparados ao grupo salina. Em relação ao grupo CIS ($1,36 \pm 0,34$), a **Figura 23B** mostra que a expressão foi aumentada no grupo tratado com NAC ($30,60 \pm 4,02$) e não variou nos grupos que receberam 8-G nas doses de 25 mg/kg ($1,26 \pm 0,41$) e 50 mg/kg ($2,8 \pm 0,57$).

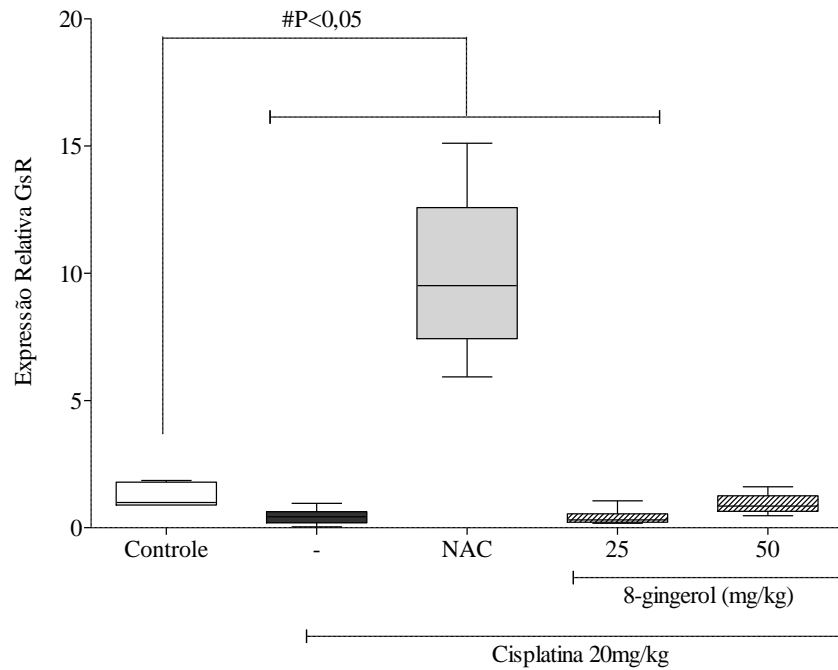
Conforme a **Figura 24A** houve um aumento na expressão de KIM-1 no grupo que recebeu apenas CIS ($2,38 \pm 0,31$) e os tratamentos com 8-G nas doses de 25 mg/kg ($1,84 \pm 0,19$) e 50 mg/kg ($1,96 \pm 0,19$) não foram capazes de normalizar esses valores, que permaneceram aumentados, quando comparados ao grupo controle ($0,98 \pm 0,11$). Não houve diferença na expressão de KIM-1 no grupo tratado com NAC ($1,47 \pm 0,16$) em relação ao controle. E, de acordo com a **Figura 24B**, a expressão de KIM-1 nos animais tratados com NAC ($0,72 \pm 0,07$) foi reduzida em relação ao grupo CIS ($1,16 \pm 0,15$). Em relação a esse mesmo grupo, não se observou diferença nos grupos tratados com 8-G 25 mg/kg ($0,90 \pm 0,093$) e 50 mg/kg ($0,96 \pm 0,096$).

Como demonstrado na **Figura 25A**, os animais do grupo CIS ($9,89 \pm 2,09$) tiveram aumento significativo na expressão de NGAL quando comparada ao grupo controle ($1,09 \pm 0,41$). Os tratamentos com 8-G na dose de 25 mg/kg ($7,41 \pm 1,94$) e 50 mg/kg ($4,68 \pm 0,97$) não foram capazes de diminuir essa expressão, que permaneceu aumentada em relação ao grupo salina. Também em relação a esse grupo, não houve diferença nos animais tratados com NAC ($3,63 \pm 1,05$). Comparativamente ao grupo CIS ($0,97 \pm 0,20$), de acordo com a **Figura 25B**, não houve diferença para os grupos NAC ($0,35 \pm 0,10$), 8-G 25 mg/kg ($0,72 \pm 0,19$) e 50 mg/kg ($0,46 \pm 0,09$).

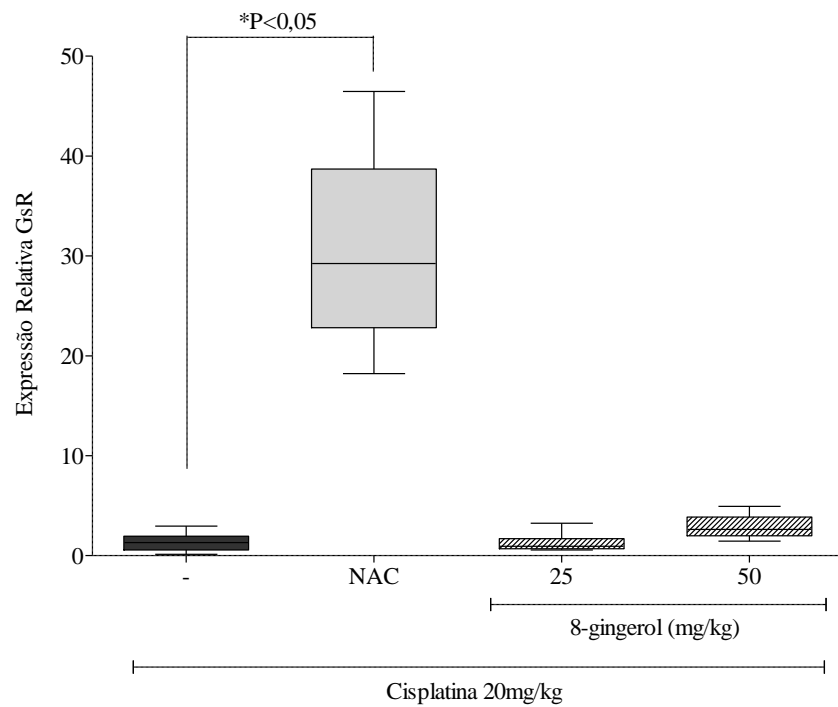
Em relação a expressão de IL-1 β , como mostra a **Figura 26A**, houve aumento no grupo CIS ($4,39 \pm 1,20$) e não houve diferença nos grupos tratados com 8-G 25 mg/kg ($1,90 \pm 0,32$), com 8-G 50 mg/kg ($1,43 \pm 0,11$) e com NAC ($1,46 \pm 0,18$) quando comparados ao grupo controle ($1,09 \pm 0,30$). Na **Figura 26B** podemos observar que, em relação aos animais tratados com CIS ($1,29 \pm 0,42$), a expressão de IL-1 β também não se alterou no grupo tratado com NAC ($0,63 \pm 0,07$), 8-G 25 mg/kg ($0,9 \pm 0,15$) e 50 mg/kg ($0,69 \pm 0,05$).

Figura 23. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de GsR na IRA induzida por cisplatina.

A)



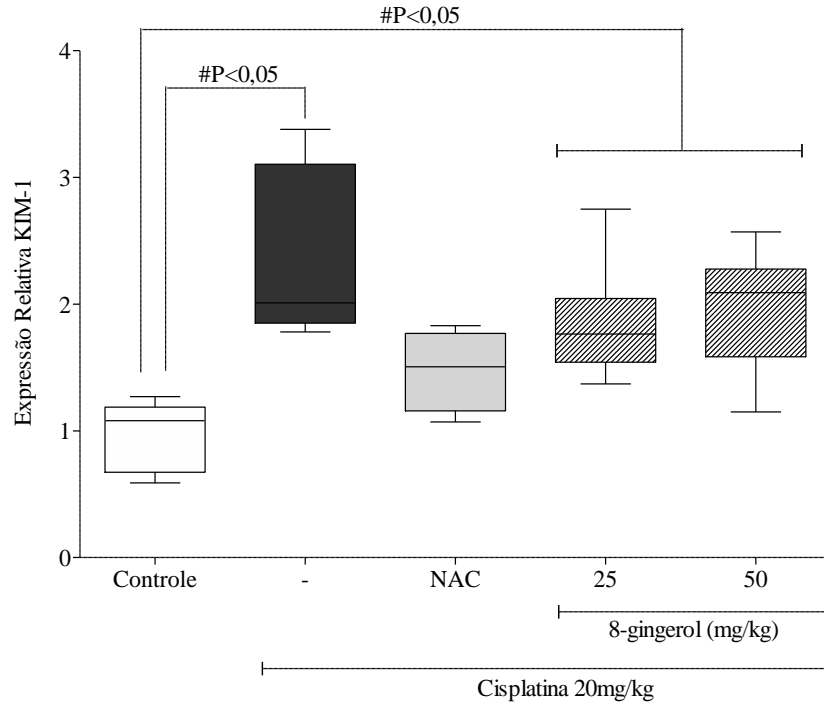
B)



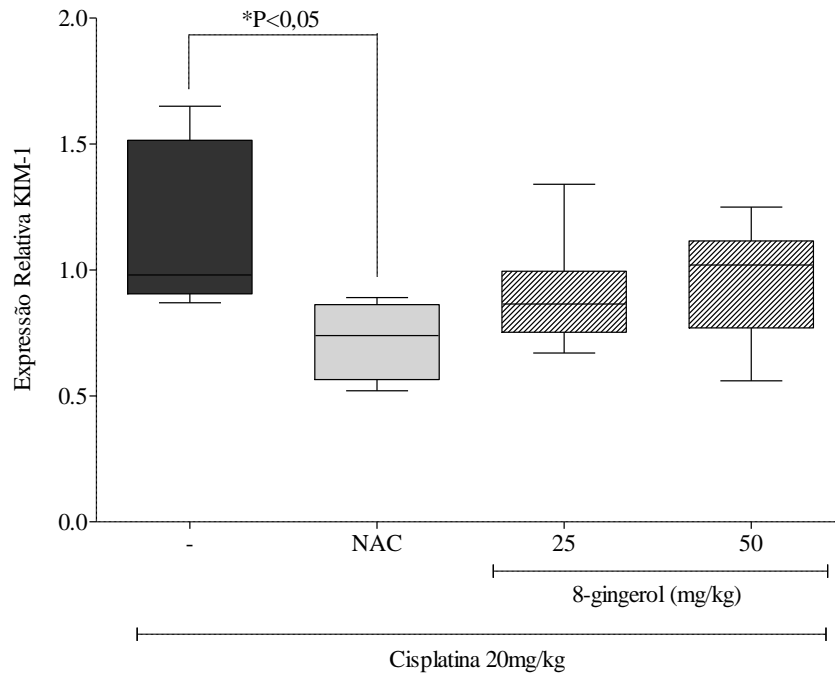
Os valores representam a transcrição gênica de GsR em animais após a indução de IRA por CIS e tratamento com 8-G i.p. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de GsR em relação ao controle. B) Expressão gênica de GsR em relação a CIS. #P< 0,05 em relação ao grupo controle (animais tratados apenas com Tween 80 2% i.p.). *P<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com CIS. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

Figura 24. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de KIM-1 na IRA induzida por cisplatina.

A)



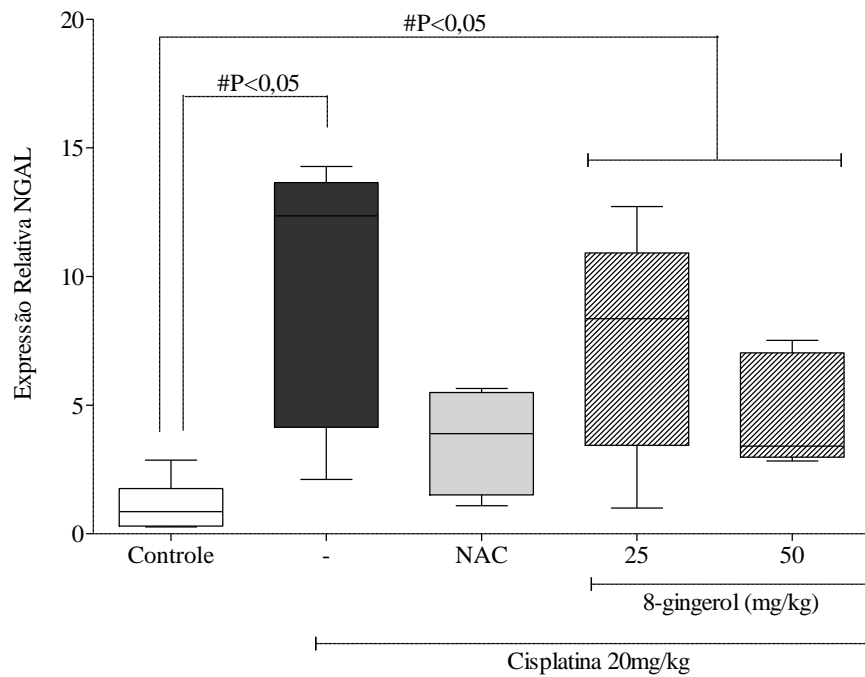
B)



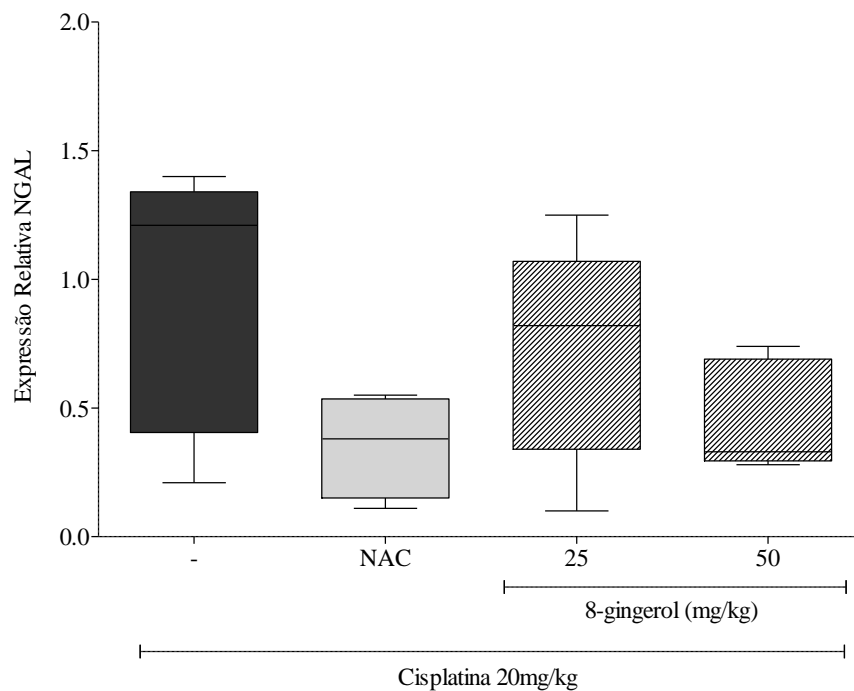
Os valores representam a transcrição gênica de KIM-1 em animais após a indução de IRA por CIS e tratamento com 8-G i.p. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de KIM-1 em relação ao controle. B) Expressão gênica de KIM-1 em relação a CIS. #P< 0,05 em relação ao grupo controle (animais tratados apenas com Tween 80 2% i.p.). *P<0,05 em relação ao grupo tratado apenas com CIS. A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

Figura 25. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de NGAL na IRA induzida por cisplatina.

A)



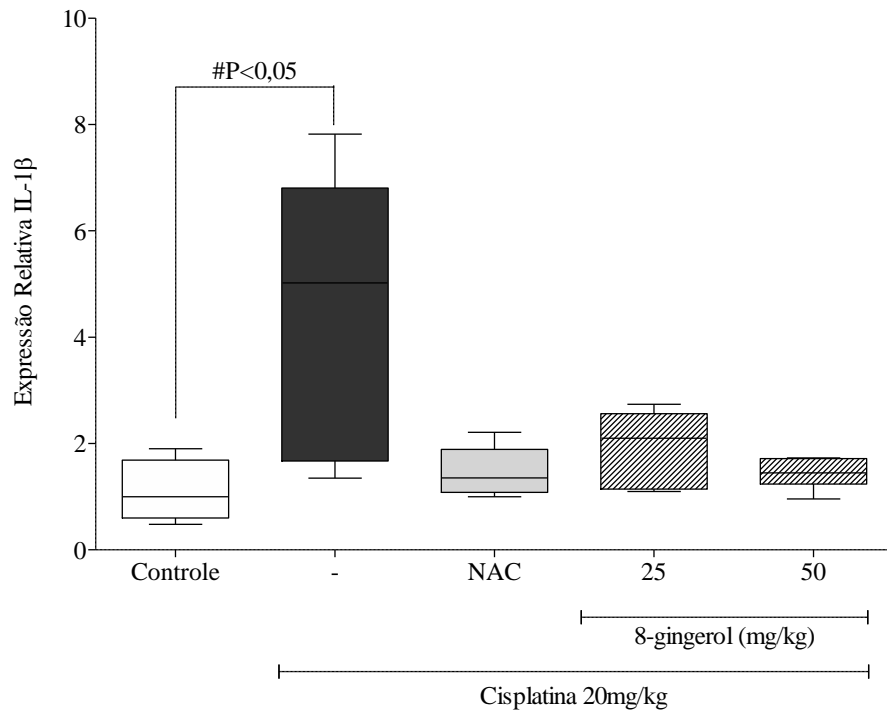
B)



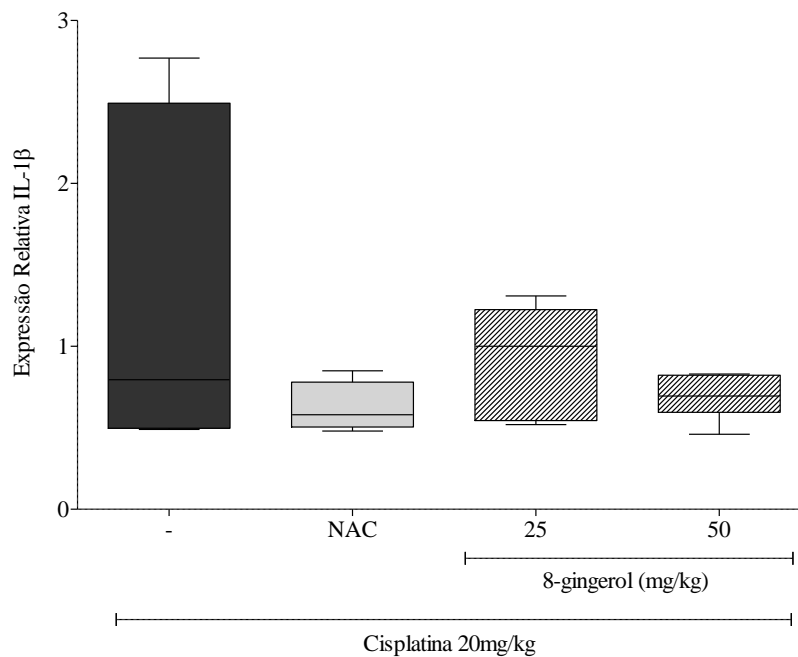
Os valores representam a transcrição gênica de NGAL em animais após a indução de IRA por CIS e tratamento com 8-G i.p. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de NGAL em relação ao controle. B) Expressão gênica de NGAL em relação a CIS. #P< 0,05 em relação ao grupo controle (animais tratados apenas com Tween 80 2% i.p.). A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

Figura 26. Efeito do tratamento com 8-gingerol e N-acetilcisteína na transcrição gênica de IL-1 β na IRA induzida por cisplatina.

A)



B)



Os valores representam a transcrição gênica de IL-1 β em animais após a indução de IRA por CIS e tratamento com 8-G i.p. Os resultados foram reportados pelas medianas (min-máx). A) Expressão gênica de IL-1 β em relação ao controle. B) Expressão gênica de IL-1 β em relação a CIS. #P< 0,05 em relação ao grupo controle (animais tratados apenas com Tween 80 2% i.p.). A análise foi realizada pelo teste Mann-Whitney.

6. DISCUSSÃO

Os rins desempenham importante papel na homeostase do organismo ao eliminar produtos do metabolismo e xenobióticos. Qualquer processo patológico ou tóxico que afeta sua função pode comprometer o equilíbrio fisiológico. A injúria renal aguda (IRA) é caracterizada pela rápida perda da função excretora renal, acúmulo de ureia e creatinina no plasma, redução ou não da diurese e desordens no equilíbrio ácido básico (BELLOMO et al., 2012; EDELSTEIN, 2013). Drogas nefrotóxicas são comumente responsáveis pelo estabelecimento de IRA que acomete percentagem significativa de pacientes em tratamento com tais drogas (AWDISHU E MEHTA, 2017).

A cisplatina (CIS) é um quimioterápico amplamente utilizado devido a sua eficácia (PABLA e DONG, 2008; HU et al., 2014). Seus mecanismos de toxicidade a tornam uma droga indispensável nos regimes de quimioterapia e um desafio na busca de estratégias que reduzam seus efeitos colaterais (MANOHAR e LEUNG, 2017). De todos eles a nefrotoxicidade se destaca por ser a mais prevalente e limitante da dose (SASTRY e KELLIE, 2005). Apesar da estratégia preventiva de hidratação antes da administração de CIS, quantidade relativamente significativa de pacientes desenvolvem IRA (MILLER et al., 2010). Os mecanismos pelos quais a droga leva à nefrotoxicidade são complexos pois envolvem diferentes mediadores e vias. A biotransformação e acúmulo nas células tubulares proximais constituem o início do processo que culmina em necrose, apoptose, dano oxidativo e inflamação (PERES e CUNHA, 2013).

O modelo de injúria renal induzido por CIS é uma importante fonte de estudos do processo fisiopatológico da IRA provocada por agentes tóxicos. Diversos fármacos utilizados na prática clínica se encaixam nesse perfil (RUSSO, 2013). A geração de radicais livres induzida por CIS é uma característica marcante da sua toxicidade (CHIRINO E CHAVERRI, 2008). Desta forma, muitos estudos buscam estratégias preventivas mediante a administração de substâncias antioxidantes de origem natural, na forma de extratos ou isoladas (GÓMEZ-SIERRA et al., 2018). Outras drogas de origem sintética, como a N-acetilcisteína (NAC), também com propriedade antioxidante já foram estudadas e demonstraram efeito protetor (WU et al., 2005; DICKEY et al., 2008). A prevenção da nefrotoxicidade por CIS reduziria a morbidade e complicações, permitindo a administração de doses mais elevadas e conseqüentemente maior aproveitamento do potencial terapêutico da droga (ABDELRAHMAN et al., 2009).

O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é muito utilizado na medicina tradicional por suas propriedades de atenuar os sintomas de diversas patologias. Na antiguidade e atualmente,

o uso medicinal do gengibre é frequente e muitos estudos comprovam suas propriedades terapêuticas em diversos cenários (ALI et al., 2008). Várias substâncias de origem natural são eficazes em diversos modelos de IRA e dentre elas o gengibre é um dos que mais se destaca pois já se mostrou eficaz em modelos de isquemia reperfusão, IRA induzida por glicerol e por CIS (BOOZARI e HOSSEINZADEH, 2017).

Os gingeróis constituem os componentes majoritários do gengibre, sendo o 6-gingerol o mais estudado (DUGASANI et al., 2010). Relatos da literatura reforçam suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (WANG et al., 2014).

Neste sentido, o presente trabalho buscou explorar as possíveis propriedades nefroprotetoras do 8-gingerol (8-G) no modelo de IRA induzida por CIS pois ainda não há relatos do seu efeito neste modelo.

Também testamos, como droga controle, a N-acetilcisteína (NAC), que é usada clinicamente como agente mucolítico e expectorante e na intoxicação por paracetamol. NAC consiste no aminoácido L-cisteína acrescido de um grupo acetil que favorece a absorção e distribuição da droga. Sua propriedade antioxidante é atribuída ao grupo tiol e por ser precursora de glutatona no organismo (ONDANI et al., 2011). Estudos anteriores mostraram que NAC melhora a nefrotoxicidade da CIS em humanos e ratos (APPENROTH et al., 1993; NISAR et al., 2002; DICKEY et al., 2005; DICKEY et al., 2008). Age principalmente inibindo a apoptose e a inflamação provocada pelo desequilíbrio redox (LUO et al., 2008). Embora a administração de NAC não faça parte do protocolo clínico padrão de estratégias para prevenir a IRA por CIS, em termos experimentais ou de testes pré-clínicos, alguns estudos a utilizam como droga comparativa na investigação dos efeitos nefroprotetores de novos compostos, incluindo aqueles de propriedade antioxidante, na injúria renal induzida por CIS (DICKEY et al., 2005; WU et al., 2011; KODAMA et al., 2013; ABDEL-WAHAB et al., 2017; BISHR et al., 2018). Não nos utilizamos da hidratação endovenosa, tal como na clínica, pois visamos comparar os efeitos de duas drogas que tenham ação similar, ou seja, efeito antioxidante como provável mecanismo de proteção. A hidratação com salina não se correlaciona com a possível proteção fornecido por NAC e pelos gingeróis, pois como já citado anteriormente, ela visa apenas hidratar o paciente, estimulando a diurese e conseqüentemente a excreção dos metabólitos tóxicos da CIS (HAYATI et al., 2016; MACH et al., 2017; NEMATBAKSHI et al., 2018; DUFFY et al., 2018), tendo, portanto, efeito protetor dissonante do nosso alvo de estudo que é o efeito antioxidante.

O modelo de IRA induzido por CIS é bastante reprodutível e descrito na literatura. As doses e a frequência de administração da droga variam em diferentes trabalhos. No entanto,

geralmente é feita em dose única que varia de 5 a 30 mg/kg, onde a dose capaz de induzir IRA é mais alta para camundongos (MISHRA et al., 2004; NAKAMURA et al., 2010; HAMAD et al., 2015) e mais baixa para ratos (KUHAD et al., 2006; BEHLING et al., 2006; DOGUKAN et al., 2011). Clinicamente, exceto para o câncer de ovário, na maioria dos regimes quimioterápicos a administração do fármaco se dá com maior frequência e em doses baixas para evitar o desenvolvimento de IRA (SHARP E SISKIND, 2017). No entanto, visto que o presente trabalho e tantos outros, buscaram estabelecer e caracterizar um quadro patológico renal agudo, para posterior desenvolvimento de estudos de medidas protetivas, os modelos que administram uma dose única e alta são mais frequentes (GÓMEZ-SIERRA et al., 2018). Com base nisso fizemos uma curva dose-resposta que definiu a dose de CIS capaz de induzir IRA e que foi utilizada na investigação do efeito protetor do 8-G e NAC.

Optamos por animais do sexo masculino pois a presença do estrógeno feminino aumenta a susceptibilidade a IRA por CIS e isso pode dificultar a visualização de um efeito protetor. Nos estudos de dano renal induzido por CIS em modelo animal, os benefícios de algumas drogas protetoras renais foram detectados em ratos machos, mas não em fêmeas (ESHRAGHI-JAZI et al., 2011; HAGHIGHI et al., 2012; NEMATBAKHSH et al., 2012; EL-ARABEY et al., 2015). O estresse oxidativo mediado pelo estrógeno foi sugerido como mecanismo (BELEH et al., 1995; NEMATBAKHSH et al., 2012). Também foi demonstrado que mulheres perimenopáusicas (com níveis de estrógeno mais altos e flutuantes) em quimioterapia com CIS têm maior risco de desenvolver nefrotoxicidade (CHEN et al., 2017). Portanto o modelo que utiliza animais fêmeas deve levar em consideração o efeito hormonal. Como não se objetivou avaliar a interferência dos hormônios femininos no tratamento, e sim retirá-la, nos utilizamos do sexo masculino.

A IRA induzida por CIS se manifesta de 3 a 5 dias após a administração da droga (ESTRELA, 2013; DRIESSEN et al., 2015), por isso a eutanásia foi feita 72h após a indução. A hidratação com salina (protocolo usado para evitar nefrotoxicidade) é feita anteriormente a administração da CIS, de forma preventiva (YAO et al., 2007). Por isso também usamos o tratamento com 8-G de forma preventiva, ou seja, antes da administração de CIS. Mas também tivemos como base o trabalho de Kuhad e colaboradores que assim procedeu em relação ao 6-gingerol no mesmo modelo (KUHAD et al., 2006).

Como já citado, o quadro de IRA caracteriza-se por queda rápida da função excretora renal o que leva ao acúmulo de compostos que devem ser naturalmente eliminados como ureia e creatinina (MELCHERT et al., 2007).

A creatinina origina-se do metabolismo da creatina e fosfocreatina, fontes de energia

para o tecido muscular (SILVA E BRACHT, 2001; EMANUELLI et al., 2008). A produção de creatinina depende da massa muscular e é constante (LEAL et al., 2007). Sua eliminação se dá por filtração glomerular sendo livremente filtrada, não reabsorvida e pouco secretada. Dessa forma, seu *clearance* tornou-se uma medida rotineira da taxa de filtração glomerular (TFG), o qual expressa a função renal, ou seja, o quanto os rins estão sendo eficazes em exercer o seu papel excretor (BRITO et al., 2005; EMANUELLI et al., 2008). Quando a eliminação da creatinina se encontra alterada ou reduzida sua excreção é comprometida e passa a acumular-se no plasma. Portanto sua dosagem sanguínea constitui também uma medida da capacidade excretora renal (PECOITS-FILHO, 2004).

O dano renal induzido por CIS e a redução da TFG são doses dependentes e se iniciam alguns dias após a administração da droga (ARANY e SAFIRSTEIN, 2003; YAO et al., 2007). A redução da TFG se deve a diversos fatores (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011). Antes das mudanças na hemodinâmica renal, o efeito tóxico da CIS inicia-se nos túbulos (NEMATBAKHSH et al., 2018). Primeiramente, a ineficiência da absorção tubular de eletrólitos e água ativa o *feedback* tubuloglomerular levando ao aumento da contração vascular reduzindo a perfusão renal (YATSU et al., 2003). Em segundo lugar o dano vascular causado pela droga reduz a resposta endotelial a substâncias vasoativas e provoca um quadro inflamatório caracterizado pelo aumento da expressão de quimiocinas e infiltração leucocitária. Esse quadro provoca congestão vascular que reduz o fluxo sanguíneo e o suprimento de oxigênio às células tubulares (BAE et al., 2009). E por último, a lesão tubular pode facilitar o refluxo do fluido tubular para o sangue e potencializar o acúmulo plasmático de ureia e creatinina (LUKE et al., 1992).

A amônia, produto tóxico oriundo do catabolismo dos aminoácidos, é convertida em ureia no fígado que deve ser eliminada por via renal (BORGES et al., 2008). Como depende da filtração glomerular para ser eliminada, a queda da TFG também leva ao aumento da ureia sanguínea. Cerca de 50% que chega ao túbulo proximal é reabsorvida nesse seguimento. Posteriormente, na alça de Henle, a mesma quantidade que foi absorvida é secretada e ao chegar nos ductos coletores essa quantidade é novamente reabsorvida (EATON e POLLER, 2006). Dessa forma, podemos observar o quanto a excreção de ureia é dependente de uma função glomerular e tubular adequada a qual fica comprometida na IRA induzida por CIS.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção e a remoção de radicais livres (CHIRINO e CHAVERRI, 2008). Esses radicais atuam sobre diversos componentes celulares destruindo sua estrutura (YAO et al., 2007). A citotoxicidade mediada por CIS envolve a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) oriundas da lesão hipóxica

devido ao seu efeito na vasculatura renal e o rompimento da síntese de ATP mitocondrial. Essas radicais livres depletam os estoques de glutatona das células e reduzem a atividade de diversas enzimas antioxidantes, inclusive da glutatona redutase (YAO et al., 2007; MANOHAR e LEUNG, 2017). Na nossa curva dose-resposta as doses de 20 e 25 mg/kg de CIS foram capazes de reduzir significativamente os níveis renais de glutatona.

O componente inflamatório da IRA provocada por CIS inicia na liberação de DAMPs (padrões moleculares associados ao dano) oriundas da ação da droga sobre diversas estruturas celulares. Esses DAMPs ativam receptores *toll like* que promovem aumento da expressão de TNF- α e de outras citocinas e quimiocinas. Estas últimas por sua vez colaboram com o aumento da infiltração de leucócitos no tecido renal (RAMESH e REEVES, 2002; ZHANG et al., 2008; MILLER et al., 2010). A enzima mieloperoxidase (MPO) está presente em monócitos, alguns subtipos de macrófagos teciduais e em neutrófilos. Nos locais de lesão tecidual, os neutrófilos, além do papel de endocitose, secretam enzimas intracelulares como elastase, endopeptidases e MPO. Esta última é o principal constituinte dos grânulos azurófilos dos neutrófilos e catalisa a formação de EROs (ROMAN et al., 2007). A administração de CIS causa um aumento no conteúdo de neutrófilos nos rins (FAUBEL et al., 2007). Portanto a medição da atividade de MPO serve como uma medida indireta da inflamação tecidual. Na curva dose-resposta observamos um aumento da atividade de MPO no tecido renal dos animais que receberam CIS nas duas maiores doses, confirmando assim o dano inflamatório tecidual.

No presente estudo observamos importantes alterações histopatológicas condizentes com o quadro de degeneração tubular causados pela CIS. Correlação similar entre essas alterações e o aumento das concentrações de ureia e creatinina também foram reportadas por diversos autores. Yildirim e colaboradores descreveram extensa vacuolização das células epiteliais, edema, descamação e necrose acompanhadas de azotemia e redução da atividade de Px-GSH (glutatona peroxidase), CAT (catalase) e SOD (superóxido dismutase) (YILDIRIM et al., 2003). Atessahin e colaboradores reportaram necrose tubular severa, azotemia, aumento do MDA e redução do GSH renal (ATESSAHIN et al., 2005). Semelhante ao que foi observado no presente estudo, CIS provocou degeneração das estruturas tubulares com vacuolização, perda da arquitetura tubular e acúmulo de material eosinofílico luminal (SAHU et al., 2013). A necrose tubular aguda é a alteração mais observada na biópsia renal de pacientes em tratamento com CIS. E em modelos animais o seguimento tubular é o mais atingido e não há alterações glomerulares evidentes (ASHRAF et al., 2012).

Pelos resultados obtidos concluímos que os efeitos das doses de 20 e 25 mg/kg de CIS foram semelhantes para os parâmetros de azotemia, inflamação e dano oxidativo. Portanto

escolhemos a dose de 20mg/kg para seguir com o tratamento.

De forma geral, no presente estudo o tratamento com 8-G na dose de 25 mg/kg não foi capaz de reduzir a injúria renal provocada por CIS. Porém, a dose de 50 mg/kg demonstrou melhores resultados visto que a maioria dos parâmetros aqui analisados não diferiu significativamente do grupo controle salina. Portanto, podemos indicar que houve sim uma atenuação do dano. O tratamento com NAC, por sua vez, forneceu uma proteção mais significativa como previamente relatado por estudos anteriores (APPENROTH et al., 1993; NISAR et al., 2002; DICKEY et al., 2005; DICKEY et al., 2008; SHALBY et al., 2011; KODAMA et al., 2014; SANCHO-MARTÍNEZ et al., 2018; BISHR et al., 2019).

Ao contrário do 6-gingerol, a literatura dispõe de poucos trabalhos que utilizam o 8-G isoladamente. Até agora muita atenção foi dada ao 6-gingerol no sentido de explorar suas propriedades terapêuticas e farmacológicas em detrimento dos outros componentes do gengibre. No entanto, um trabalho publicado por Dugasani e colaboradores, demonstrou *in vitro*, que o 8-G tem maior potencial antioxidante em relação ao 6-gingerol (DUGASANI et al., 2010), o que pode demonstrar que o 8-G não ficaria atrás do 6-gingerol em termos de proteção se testado nos mesmos modelos. Por exemplo, até a presente data, nenhum trabalho foi publicado sobre a possível ação nefroprotetora do 8-gingerol, seja em modelos de isquemia reperfusão ou de nefrotoxicidade induzida por drogas. A literatura dispõe de dados sobre seu efeito antiemético (ABDEL-AZIZ et al., 2006), cardiotônico (KOBAYASHI et al., 1988), bactericida (MAHADY et al., 2003; CHOI et al., 2017; SANTOS, 2018), fungicida (LEE et al., 2018), antiplaquetário (NURTJAHJA-TJENDRAPUTRA et al., 2003), anti melanogênico (HUANG et al., 2013) e imunossupressor (LU et al., 2011). Em relação a sua ação anti-inflamatória sabe-se que reduz a inflamação intestinal induzida por dextrana (ZHANG et al., 2017) e exerce efeito protetor na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (FERREIRA, 2017). Essa limitada quantidade de trabalhos, quando comparado ao 6-gingerol, se deve talvez, ao fato de o 8-G ter concentração reduzida no gengibre que fica em torno de 2-5% (JOLAD et al., 2005; PRATO, 2010). Estas concentrações talvez dificultem o isolamento de quantidades maiores, sendo essa uma limitação para a realização de mais estudos. O mesmo ocorre com outros componentes minoritários do gengibre que têm quantidade reduzida de trabalhos quando comparados ao 6-gingerol, componente mais abundante, cujo rendimento está em torno de 30% (JOLAD et al., 2005).

No presente estudo, a elevação dos níveis séricos de ureia e creatinina e a redução da taxa de filtração glomerular, mostram o comprometimento da função renal induzido pela CIS. Alguns estudos demonstraram que a administração de extrato de gengibre e de alguns

compostos isolados reduziram os níveis de ureia e creatinina elevados em modelos de nefrotoxicidade por CIS (KUHAD et al., 2006; AJITH et al., 2007; ALI et al., 2013; ELSEWEIDY et al., 2016; ALIBAKHSHI et al., 2018). No entanto, no presente estudo, o tratamento com 8-G na dose de 25 mg/kg não foi capaz de reduzir esses parâmetros. Porém, seu aumento para 50 mg/kg permitiu uma redução significativa dos valores. Em alguns trabalhos com CIS, gingerol e derivados, a proteção foi dose-dependente, ou seja, mais significativa com o aumento da dose. Por exemplo, o tratamento com Zingerone, só foi capaz de diminuir esses parâmetros na maior dose administrada (ALIBAKHSHI et al., 2018). No trabalho de Kuhad e colaboradores as duas menores doses de 6-gingerol variaram com o grupo controle e lesão, mostrando resultados intermediários, mas a maior dose baixou os valores ao nível do controle demonstrando proteção mais significativa (KUHAD et al., 2006). Da mesma forma, a administração de extrato etanólico e o tratamento com 10-dehydrogingerdione (10-DHGD) também diminuíram a azotemia na injúria renal induzida por CIS (AJITH et al., 2007; ELSEWEIDY et al., 2016).

Em relação a NAC, diversos estudos relatam que sua administração a animais que receberam CIS foi capaz de baixar as concentrações sanguíneas de nitrogênio ureico e creatinina (DICKY et al., 2005; DICKY et al., 2008; KODAMA et al., 2014; BISHR et al., 2018). Da mesma forma como no presente trabalho, no estudo de Bulacio e colaboradores, NAC reduziu a ureia e aumentou o *clearance* de creatinina a valores intermediários e reduziu significativamente a creatinina plasmática. (BULACIO et al., 2015). A mesma tendência foi aqui observada demonstrando assim o efeito protetor de NAC.

A enzima gama glutamil transferase (Gama GT) está abundantemente presente em órgãos com alta capacidade de secreção e absorção. Sua maior atividade se dá nas microvilosidades das células do túbulo proximal e na alça de Henle onde é liberada na urina através da desintegração fisiológica ou patológica dessas células. Por ser uma proteína de alto peso, não é filtrada pelo glomérulo e seu aumento na urina reflete eliminação pelas células tubulares indicando lesão tubular (ARAÚJO, 2014). Nos rins, a Gama GT catalisa a hidrólise de peptídeos do filtrado glomerular em aminoácidos facilitando sua reabsorção para o interstício (GUIMARÃES, 2000; EATON e POLLER, 2006). É vista como um marcador precoce de lesão pois ocorre simultaneamente à pequenas alterações celulares, antes de qualquer mudança na arquitetura renal e surge dias antes da azotemia (GUIMARÃES, 2000; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011). A enzimúria ou eliminação de enzimas na urina, é comum nas formas mais leves de IRA. Na injúria induzida por CIS consiste em um importante marcador de dano tubular (ARANY e SAFIRSTEIN, 2003; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011). Assim

como no presente trabalho, outros estudos confirmaram o aumento de Gama GT na urina de animais (GORDON et al., 1986; MISHRA et al., 2013) e de pacientes tratados com CIS (HU et al., 1995).

Os tratamentos com 8-G na maior dose e NAC reduziram a Gama GT urinária embora sem significância estatística. Não existem trabalhos anteriores com gengibre e derivados que avaliaram a excreção dessa enzima no contexto de dano renal. No entanto, podemos afirmar que, o que foi aqui observado em relação a esse parâmetro, é condizente com os resultados globais aqui obtidos, ou seja, de proteção do dano.

Em relação ao tratamento com NAC no dano renal induzido por gentamicina, a administração de NAC foi capaz de reduzir a Gama GT urinária, mas não de restaurar a valores encontrados nos animais sadios (MAZZON et al., 2001). Em outro modelo de injúria renal por cloreto de mercúrio também tratado com NAC, a Gama GT variou tanto com o grupo lesionado quanto com o controle (GIRARDI e ELIAS, 1991). Mas ambos os resultados demonstraram que houve uma atenuação do dano e corroboram com os dados aqui encontrados.

Nas doenças renais, as lesões glomerulares permitem a passagem de albumina para o filtrado e lesões tubulares reduzem sua absorção, provocando perda urinária. No processo fisiológico normal, uma diminuta quantidade de albumina atravessa os glomérulos e é reabsorvida nos túbulos de forma que não seja eliminada na urina (ALMEIDA, 2001; EATON e POLLER, 2006). Na nefrotoxicidade por CIS, a perda urinária de albumina pode ser um indício de lesão tubular pois sua reabsorção fica prejudicada (McDUFFIE et al., 2013). Além de aumentar os níveis urinários, a IRA induzida por esse quimioterápico também reduz os níveis séricos de albumina (MANSOUR et al., 2002). A eliminação de albumina na urina já foi reportada tanto em animais (QUESADA et al., 2012; McDUFFIE et al., 2013) como em pacientes em uso de CIS (DAUGAARD et al., 1988; LIN et al., 2013). Desta forma, no presente trabalho, nos utilizamos desse parâmetro para avaliar a perda de função renal provocada por essa droga. Tal como com os marcadores séricos de azotemia, a albumina urinária aumentou significativamente no grupo lesionado e no grupo tratado com 25 mg/kg de 8-G, demonstrando que, nessa dose, a droga não forneceu proteção renal para o modelo. No entanto, o aumento para 50 mg/kg e o tratamento com NAC reduziram as médias, mostrando assim uma diminuição do dano.

Proteínas de baixo e médio peso também conseguem atravessar a barreira glomerular, no entanto, tal como a albumina, são reabsorvidas em sua quase totalidade (EATON e POLLER, 2006). Embora a lesão glomerular seja menos frequente, a proteinúria é uma característica marcante na injúria renal induzida por CIS o que pode significar que sua origem

advém da necrose tubular e consequente incapacidade de absorção provocada pela droga e da liberação de proteínas pelas próprias células tubulares (DAUGAARD et al., 1988; CHIRINO et al., 2004; EATON e POLLER, 2006). Em outros trabalhos a proteinúria induzida por CIS também é acompanhada de azotemia, aumento do MDA renal e alterações histopatológicas (CHIRINO et al., 2004; CHIRINO et al., 2008; KHAN et al., 2013). A administração de uma fração enriquecida com [6], [8] e [10]-gingerol na injúria renal provocada por gentamicina diminuiu a excreção de proteína urinária (RODRIGUES, 2014). Alguns estudos mostram que o tratamento com NAC também reduziu a excreção de proteína na injúria renal induzida por CIS (BULACIO et al., 2015; ABDEL-WAHAB et al., 2017; SANCHES-MARTINEZ et al., 2018). Segundo os nossos dados, semelhante ao que houve com a albumina, a maior dose de 8-G e o tratamento com NAC diminuíram a excreção de proteína embora sem significância estatística quando comparados ao grupo controle e CIS.

A GSH possui importante papel ao proteger as células dos danos causados pelos radicais livres e peróxidos oriundos do estresse oxidativo (HEGAZY et al., 2016). A enzima GsR (glutathione redutase) restaura a glutathione oxidada à glutathione reduzida, reestabelecendo assim o estoque desse importante antioxidante (OLIVEIRA et al., 2008). Na disfunção hepática e renal induzida por cloreto de mercúrio os tratamentos com gengibre e 6-gingerol aumentaram os níveis de GSH e a atividade de GsR tanto nos rins como no fígado dos animais (JOSHI et al., 2017). Também foi demonstrado que a administração de extrato de gengibre foi capaz de normalizar os níveis renais de GSH e aumentar a atividade de GSH-Px na nefrotoxicidade por CIS (AJITH et al., 2007). O tratamento com 6-gingerol nas doses de 12,5 e 25 mg/kg no mesmo modelo, aumentou o GSH a valores intermediários, que variaram com o grupo controle e CIS. Porém, a dose maior de 50 mg/kg mostrou melhores resultados (KUHAD et al., 2006). Dados semelhantes foram encontrados no presente estudo, onde a maior dose de 8-G proporcionou melhora tanto na expressão gênica da enzima GsR quanto na dosagem de GSH embora sem variação estatística, mostrando assim uma atenuação do dano. Os gengerois pertencem à classe dos compostos fenólicos cuja estrutura química e propriedades redutoras são fatores importantes para o sequestro de radicais livres, agindo tanto na etapa de iniciação quanto de propagação do estresse oxidativo (JIMÉNEZ-ESCRIG et al., 2000). Os compostos fenólicos agem através da doação de átomos de hidrogênio aos radicais livres formando estruturas estáveis que, devido a ressonância no anel benzênico, não têm capacidade de iniciar ou propagar reações oxidativas (WANG et al., 2014). Foi demonstrado, por exemplo, que o 6-gingerol sequestrou radicais derivados de peroxinitrito e inibiu reações de oxidação e nitração induzidas por peroxinitrito *in vitro* (IPPOUSHI et al., 2003; IPPOUSHI et al., 2005). Além disso, tanto o

6-gingerol como o 8-gingerol inibiram a melanogênese tendo como sugestão de mecanismo a captação direta dos radicais livres em células de melanoma (HUANG et al., 2011; HUANG et al., 2013).

Em modelo de IRA induzido por CIS, NAC aumentou o GSH renal e a atividade da enzima glutathiona peroxidase e redutase (ABDEL-WAHAB et al., 2017; BISHR et al., 2018). Esses dados corroboram com os dados aqui obtidos visto que NAC aumentou tanto a expressão gênica de GsR como a concentração de GSH renal. A propriedade antioxidante de NAC é atribuída ao hidrogênio presente nos seus grupos sulfidrilas, os quais podem atuar na neutralização de radicais livres, diminuindo a ação deletéria sobre os tecidos normais. NAC também é precursora de GSH nas células, pois contém o aminoácido cisteína componente da glutathiona (PEREIRA-FILHO et al., 2008; ONDANI et al., 2011). Foi sugerido que NAC reduz a ligação dos metabólitos da CIS ao DNA provavelmente devido a aversez dessas espécies pelo grupo tiol (SANCHO-MARTÍNEZ et al., 2018). O tratamento com NAC, tanto *in vivo* como *in vitro*, reduziu a lesão provocada por CIS quando o fator Nfr2 foi silenciado (LIU et al., 2009; SOMPAKDEE et al., 2018).

O MDA é o produto da peroxidação lipídica mais estudado e se origina do dano causado pelos radicais livres às membranas biológicas (VANNUCCHI et al., 1998). É formado durante a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente o ácido araquidônico (TUAN, 2014). Os lipídios são a classe de biomoléculas mais envolvidas no estresse oxidativo e os produtos formados são principalmente aldeídos que provocam outros danos dentro e fora da célula (DEL RIO et al., 2007). O MDA urinário pode ser medido e servir como um indicador de estresse oxidativo e peroxidação lipídica (LEE e KANG, 2008). Existe uma forte correlação entre a presença de MDA no tecido renal e na urina de animais tratados com CIS. Zhou e colaboradores avaliaram o MDA tecidual e na urina de ratos e confirmaram aumento nas duas amostras (ZHOU et al., 2006). Em dois trabalhos de Francescato e colaboradores, o dano oxidativo renal foi avaliado pela dosagem de MDA urinário que se mostrou elevado em animais tratados com CIS (FRANCESCATO et al., 2007; FRANCESCATO et al., 2009). Desta forma, no presente estudo, também nos utilizamos de amostras de urina para demonstrar o grau de dano oxidativo no tecido renal.

O tratamento com 8-G na maior dose empregada atenuou a excreção do MDA urinário. O tratamento com uma fração enriquecida com gíngerois reduziu a excreção de MDA urinário na IRA por gentamicina, porém também sem variação estatística (RODRIGUES, 2014). A administração de zingerona no modelo de CIS diminuiu o MDA renal nas duas maiores doses (ALIBAKHSHI et al., 2018). E a administração de 6-gingerol diminuiu o MDA renal também

na maior dose (KUHAD et al., 2006). No presente trabalho o tratamento com NAC reduziu o dano oxidativo renal como pode ser observado pela redução da média do MDA urinário dos animais.

O gengibre possui reconhecidas propriedades anti-inflamatórias e já foi demonstrada sua capacidade de inibir a enzima lipoxigenase e a produção de leucotrienos (GRZANNA et al., 2005). No edema de pata induzido por carragininina a administração de extrato de gengibre atenuou a atividade de MPO tecidual (EZZAT et al., 2018). *In vitro* foi demonstrado que o 6-gingerol inibiu a produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos murinos expostos à LPS (lipopolissacarídeo) (TRIPATHI et al., 2007). O efeito de redução da atividade de MPO pode estar relacionado ao bloqueio dessa produção e consequente redução do infiltrado inflamatório. No presente trabalho as duas doses de 8-G diminuíram a atividade de MPO tecidual embora sem variação estatística. A atividade anti-inflamatória do 8-G já foi demonstrada pela sua capacidade de reduzir os scores de inflamação e a atividade de MPO na colite ulcerativa induzida por dextrana (ZHANG et al., 2017) e na cistite hemorrágica por ifosfamida (FERREIRA, 2017).

No presente estudo o tratamento com NAC também diminuiu a inflamação induzida por CIS ao reduzir a atividade de MPO. Na injúria renal induzida por gentamicina e por metotrexato o tratamento com NAC também reduziu a inflamação ao reduzir o MPO nesse tecido (MAZZON et al., 2001, CETINKAYA et al., 2006). O estresse oxidativo desempenha um papel crítico no aumento da resposta inflamatória. Os radicais livres afetam as estruturas celulares e levam a ativação da via do NF- κ B com liberação de quimiocinas e citocinas com consequente recrutamento de neutrófilos (RADA et al., 2011; SINHA et al. 2015). O efeito anti-inflamatório de NAC se encontra na redução do dano oxidativo e consequentemente da inflamação (WITTE et al., 2012).

No presente trabalho o tratamento com 8-G não reduziu todas as alterações histopatológicas provocadas pela CIS. Para Nasri e colaboradores o pós tratamento com extrato de gengibre em um modelo de injúria renal por gentamicina não foi capaz de proteger os rins completamente (NASRI et al., 2013). Kuhad e colaboradores, também no modelo de IRA por CIS, mostraram que a administração de 6-gingerol na maior dose testada não reduziu completamente os scores de alterações histopatológicas. Ainda foi possível constatar a presença de perda da borda em escova, edema, dilatação tubular, necrose de células epiteliais e formação de cilindros hialinos. No entanto, por outro lado, a maioria dos parâmetros avaliados como MDA, GSH, a azotemia e a TFG foram significativamente reduzidas com essa dose (KUHAD et al., 2006). No presente estudo os rins de animais tratados com NAC mostraram danos mais

atenuados. Em outros estudos, na intoxicação por CIS, a administração de NAC revelou a presença de poucas áreas focais de células vacuoladas e degeneradas (ABDELRAHMAN et al., 2010) e melhorou a dilatação tubular e o descolamento das células (BULACIO et al., 2015).

Ambos, KIM-1 e NGAL, são biomarcadores precoces e se diferenciam em relação a porção do néfron na qual se expressam. O primeiro se expressa no túbulo proximal (TIMMEREN et al., 2007) e o segundo no ramo ascendente da alça de Henle e no ducto coletor (CHMIDT-OTT et al., 2007). Dessa forma, avaliar suas expressões, embora ambos sejam precoces, é uma forma de verificar a injúria em diferentes porções do néfron.

A Molécula de Injúria Renal 1 (KIM-1) é uma proteína transmembrana cuja expressão aumenta nas células tubulares proximais quando há injúria local (TIMMEREN et al., 2007). É um marcador de lesão renal precoce pois se altera muito antes dos parâmetros tradicionais de função renal. A creatinina, por exemplo, precisa que cerca de 50% da função esteja comprometida para que seja alterada (HAN et al., 2002; BONVENTRE, 2008). No rim lesado, 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). Já foi bem reportado que a expressão de KIM-1 aumenta no tratamento com CIS (WU et al., 2011; VINKEN et al., 2012; SINHA et al., 2013; AHMAD et al., 2018), o que vai de acordo com os achados do presente trabalho. Na presença de um agente nefroprotetor a expressão de KIM-1 pode ser reduzida como observado pela diminuição do seu nível tecidual e urinário no tratamento da nefropatia diabética com zingerona (REHMAN et al., 2018) e na administração de NAC a pacientes tratados com anfotericina B (KARIMZADEH et al., 2015), respectivamente. Essa molécula se expressa mais rapidamente do que outros marcadores também considerados precoces como o NGAL, MCP-1 e IL-18, sendo, portanto, mais sensível (LIANGOS et al., 2009). Na IRA induzida por CIS, por exemplo, sua excreção urinária aumenta primeiro que a de NGAL (SINHA et al., 2013).

A lipocaina associada a gelatinase neutrofílica (NGAL) foi primeiro descrita em grânulos de neutrófilos humanos e posteriormente em células epiteliais renais em resposta ao processo inflamatório (KJELDSSEN et al., 1995; FERNÁNDEZ et al., 2005). É um marcador de lesão renal precoce e aumenta horas após o processo de isquemia e inflamação (LAGO et al., 2016). Tem se considerado que seu aumento ocorre devido ao seu envolvimento na proliferação de túbulos renais, sendo essa uma possível via de proteção renal por ele mediada (YANG et al., 2002). Assim como nos nossos achados, seu aumento já foi reportado na injúria renal provocada por CIS (MISHRA et al., 2004; SINHA et al., 2013). No presente trabalho, o tratamento com 8-G na maior dose reduziu a expressão de NGAL porém permaneceu diferente

do grupo controle. Já o tratamento com NAC reduziu de forma mais significativa, porém sem variar estatisticamente. Sherif e colaboradores demonstraram que o tratamento com extrato etanólico de gengibre durante sete dias, de forma preventiva, diminuiu a concentração de NGAL urinário na nefrotoxicidade induzida por contraste iodado (SHERIF et al., 2018). E a administração de NAC na nefropatia induzida por contraste e por LPS também reduziu os níveis teciduais de NGAL (LI et al., 2016; PLOTNIKOV et al., 2017).

A interleucina 1- β (IL-1 β) é uma citocina pró-inflamatória que inicia o recrutamento de leucócitos e estimula a expressão de genes pró-inflamatórios, sendo assim considerada, junto com o TNF- α , uma citocina de alarme (APTE e VORONOV, 2002). Foi demonstrado que sua expressão aumenta na nefrotoxicidade induzida por CIS (FAUBEL et al., 2007; REN e TORRES, 2009; QIN et al., 2019). Essa elevação é concomitante a de outras citocinas como TNF- α , IL-6, IL-18, infiltração de neutrófilos e aumento da atividade de MPO (FAUBEL et al., 2007; TOPCU-TARLADACALISIR et al., 2016). Em um modelo de injúria renal por CIS, animais *knockout* pra caspase 1 (que ativa IL-1 β) tiveram apoptose e infiltrado renal reduzidos quando comparados aos animais selvagens nas mesmas condições (FAUBEL et al., 2004).

Em relação a expressão gênica de IL-1 β , nossos achados demonstraram que o tratamento com 8-G não se mostrou diferente estatisticamente do grupo controle, porém também não diferiu em relação ao grupo CIS, mostrando também uma atenuação nesse parâmetro. O tratamento com gengibre foi capaz de reduzir a produção de IL-1 β e TNF- α na inflamação intestinal induzida por metotrexato (ABD-ALLAH e EL-DIN; 2013). No contexto de injúria renal o tratamento com zingerona e com extrato enriquecido com gíngerois reduziu as concentrações e a expressão de IL-1 β e TNF- α no tecido renal no dano induzido por vancomicina (KANDEMIR et al., 2018) e por gentamicina (RODRIGUES et al., 2014), respectivamente. Na IRA induzida por CIS (BISHR et al., 2019) e por paracetamol (AL-RASHEED et al., 2017) o tratamento com NAC também diminuiu a expressão de IL-1 β , o que corrobora com os dados aqui encontrados.

Embora a inflamação seja uma característica do modelo de nefrotoxicidade induzida por CIS, ela não é determinante para o grau da injúria. Estudos anteriores demonstraram que a inibição de diversas citocinas, exceto o TNF- α , e o bloqueio da infiltração leucocitária não tiveram quaisquer efeitos de redução do dano provocado pela droga (FAUBEL et al., 2007; MILLER et al., 2010). Em um trabalho anterior, que avaliou o efeito anti-inflamatório dos compostos [6], [8] e [10]-gingerol na cistite hemorrágica induzida por ifosfamida (modelo com alto grau de inflamação), o tratamento com 8-G se destacou mais que os outros em termos de efeito anti-inflamatório, reduzindo significativamente a expressão de COX-2, TNF- α e IL-6.

Por outro lado, o tratamento com 6-G não diminuiu essa expressão, tendo efeito apenas na redução da COX-2 (FERREIRA, 2017). No presente trabalho as duas doses de 8-G diminuíram os níveis de MPO renal e reduziram a expressão de IL-1 β , embora sem variação estatística em relação ao grupo CIS e controle. Com base nesses resultados podemos inferir que o efeito anti-inflamatório do 8-G se destaca frente ao seu efeito antioxidante e, amparados por Faubel e colaboradores, sabemos que o efeito pró-inflamatório da CIS não é determinante para o grau da injúria renal. Dessa forma, sugerimos que a moderada proteção fornecida por 8-G no presente trabalho, em comparação com a do 6-G em um estudo anterior (KUHAD et al., 2006) possa ser por esses dados justificada.

Utilizamos a via intraperitoneal para aumentar a biodisponibilidade do 8-G visto que essa via favorece um menor efeito de primeira passagem quando comparados à via oral (KIMANI et al., 2017). Além disso, como nosso desenho experimental se baseou no trabalho de Kuhad e colaboradores, empregamos a mesma via por ele utilizada (KUHAD et al., 2006). A cavidade intraperitoneal oferece uma extensa área de absorção através da qual os fármacos alcançam rapidamente a circulação. Parte do que é absorvido passa pelo fígado e é metabolizado (SANTOS et al., 2013). Trabalhos anteriores que investigaram a farmacocinética dos gingeróis concluíram que os mesmos apresentavam baixa solubilidade (MUKKAVILLI et al., 2017), curta meia-vida (ZICK et al., 2008; YU et al., 2011), metabolização microsomal extensa (WANG et al., 2009; MUKKAVILLI et al., 2017) e forte ligação às proteínas plasmáticas (WANG et al., 2009). Portanto, temos que os gingeróis, de maneira geral, apresentam biodisponibilidade de certa forma limitada. Outro estudo demonstrou que, de todos os gingeróis e 6-shogaol, os compostos 6 e 8-gingerol não foram detectados de forma livre no plasma (YU et al., 2011), mostrando que estes apresentam a menor biodisponibilidade em comparação aos demais. E quando comparados entre si, o 6-gingerol mostrou resultados melhores para os parâmetros farmacocinéticos de C_{máx} (concentração máxima no soro), T_{máx} (tempo necessário para alcançar o C_{máx}) e AUC (concentração sérica em função do tempo) em relação ao 8-G, demonstrando ser o primeiro mais biodisponível que o segundo (ZICK et al., 2008; GUNDALA et al., 2014). Dessa forma, sugerimos que esses dados podem ajudar a justificar o melhor efeito terapêutico obtido em estudo anterior com o 6-gingerol (KUHAD et al., 2006) em detrimento do aqui obtido com o 8-G.

Como já mencionado, diversos trabalhos ao estudar o efeito antioxidante de alguns compostos utilizam a NAC como droga comparativa (DICKEY et al., 2005; WU et al., 2011; KODAMA et al., 2013; ABDEL-WAHAB et al., 2017; BISHR et al., 2018). O melhor efeito protetor da NAC aqui observado, em comparação ao 8-G, pode ser justificado por algumas

propriedades que ela detém e que são nele ausentes. São elas o fato de NAC ser precursora direta de GSH nas células (ONDANI et al., 2011) e possuir grupos tiol pois já foi demonstrado que tais grupos possuem alta afeição pelos metabólitos hidrolisados da CIS (KASHERMAN et al., 2009; SANCHO-MARTÍNEZ et al., 2018). O 8-G por sua vez, tem ao seu favor a presença do anel benzênico que pode justificar seu efeito antioxidante (IPPOUSHI et al., 2005; WANG et al., 201) e o provável efeito diurético (NETO, 2012) que pode favorecer a excreção urinária dos metabólitos tóxicos da CIS. Portanto, no que diz respeito à nefrotoxicidade da CIS, cujo mecanismo deletério chave é o dano oxidativo, o efeito antioxidante de NAC pode se destacar frente ao do 8-G.

Como limitações podemos citar a falta de medida da concentração plasmática das drogas em estudo de forma a verificar sua biodisponibilidade e a quantidade limitada de 8-G que não nos permitiu aumentar a dose ou reproduzir o experimento mais de uma vez, tendo assim pouco material disponível para análise de outros marcadores para o dano oxidativo, por exemplo.

Na literatura o modelo de IRA induzido por CIS está bem caracterizado e, segundo os parâmetros analisados no presente trabalho, nós conseguimos reproduzi-lo. Os resultados obtidos em relação ao tratamento com NAC condizem com os previamente relatados na literatura pois aqui também demonstraram um efeito redutor da injúria por CIS. A maior dose de 8-G também mostrou resultados promissores ao atenuar a maioria dos parâmetros aqui analisados tendo também um efeito protetor sobre a lesão.

Tabela 4. Resumo dos resultados encontrados

	CIS	NAC	25	50
Creatinina	↑	↓	↑	↓
Ureia	↑	-	↑	↓
TFG	↓	-	↓	-
GAMA-GT urinária	↑	-	↑	-
Albuminúria	↑	-	↑	-
Proteinúria	↑	-	↑	-
GSH renal	↓	↑	↓	-
GsR	↓	↑	↓	-
MDA urinário	↑	-	↑	-
MPO renal	↑	↓	-	-
KIM-1	↑	-	↑	↑
NGAL	↑	-	↑	↑
IL-1β	↑	-	-	-
Alterações Histopatológicas	↑	↓	↑	↑

Fonte: autor. O símbolo ↑ representa aumento significativo, ↓ redução significativa e - ausência de diferença estatística em relação ao grupo controle ou ao grupo CIS.

7. CONCLUSÃO

Pelos dados aqui obtidos concluímos que o modelo de nefrotoxicidade por cisplatina foi reproduzido e a dose de 20mg/kg foi capaz de modificar todos os parâmetros de função renal aqui avaliados.

O 8-gingerol administrado na maior dose protegeu os rins dos danos provocados ao atenuar a azotemia, a TFG, a perda de proteína na urina, o dano oxidativo, a inflamação, a expressão gênica de GsR e de IL-1 β . A N-acetilcisteína, droga comparativa, também reduziu o quadro lesivo, como previamente descrito na literatura.

Dessa forma concluímos que o 8-G aplicado intraperitonealmente na dose de 50 mg/kg possui efeito protetor na IRA induzida por CIS.

REFERÊNCIAS

- ABD-ALLAH, O.M.; EL-DIN, A. I. The Possible Protective Effect of Ginger Against Intestinal Damage Induced by Methotrexate in Rats. *Med. J. Cairo Univ*, v. 81, n. 1, p. 1073-1084, 2013.
- ABDEL-AZIZ, H. et al. Mode of action of gingerols and shogaols on 5-HT₃ receptors: Binding studies, cation uptake by the receptor channel and contraction of isolated guinea-pig ileum. *European Journal of Pharmacology*, v. 530, p. 136–143, 2006.
- ABDELRAHMAN, A.M. et al. N-acetylcysteine improves renal hemodynamics in rats with cisplatin-induced nephrotoxicity. *J. Appl. Toxicol*, v. 30, p. 15–21, 2010.
- ABDEL-WAHAB W. M., MOUSSA F., SAAD N. 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.
- ABOLAJI, A.O. et al. 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. 25, n. 270, p. 15-23, 2017.
- ADENKULE, A.I. et al. Ginger polyphenols attenuate cyclosporine-induced disturbances in kidney function: Potential application in adjuvant transplant therapy. *Pathophysiology*, v. 25 p. 101–115, 2018.
- 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.
- AHMED, R.S.; SETH, V.; BANERJEE, B.D. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) on antioxidant defense system in rat: comparison with ascorbic acid *Indian J Exp Biol.*, v. 38, p. 604-606, 2000.
- AJITH, T. A.; NIVITHA, V.; USHA, U. *Zingiber officinale* Roscoe alone and in combination with α-tocopherol protect the kidney against cisplatin-induced acute renal failure. *Food and Chemical Toxicology*, v. 45, p. 921–927, 2007.
- ALI, B.H. et al. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p. 409–420, 2008.
- ALI, D.A. et al. Histological, ultrastructural and immunohistochemical studies on the protective effect of ginger extract against cisplatin-induced nephrotoxicity in male rats. *Toxicology and Industrial Health*, v. 31, n. 10, p. 869–880, 2015.
- ALIBAKHSHI, T. Protective effects of zingerone on oxidative stress and inflammation in cisplatin-induced rat nephrotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 105, p. 225–232, 2018.
- ALMEIDA, F.A. Microalbuminúria como marcador precoce de comprometimento da função renal. *Rev Bras Hipertens*, v. 8, n. 3, 2001.
- AL-RASHEED, N. et al. Amelioration of Panadol-induced Nephrotoxicity via Down-

regulation of Bax / Bcl2 Ratio with Some Antioxidants. **Pharmacol Rep.** v. 69, p. 1088-1093, 2017.

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.

APTE, R.N.; VORONOV, E. Interleukin-1: a major pleiotropic cytokine in tumor-host interactions. **Seminars in Cancer Biology**, v. 12, p. 277-290, 2002.

ARANY, I.; SAFIRSTEIN, R.L. Cisplatin Nephrotoxicity. **Seminars in Nephrology**, v. 23, n. 5, p. 460-464, 2003.

ARAÚJO, W.L. Avaliação da atividade e da estabilidade de GGT urinário de cães hípidos. **Dissertação de Mestrado**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

ASHRAF, F. et al. 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? **Nephro Urol Mon**, v. 5, n. 4, 2013.

ATESSAHIN, A. et al. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. **Toxicology**, v. 212, p. 116–123, 2005.

AWDISHU L.; MEHTA, R. L. The 6R's of drug induced nephrotoxicity. **Bio Med Central Nephrology** v. 18, 2017.

BAE, E.H.; LEE, J.; MA S.K.; KIM, I.J.; FROKIAER, J.; NIELSEN, S.; KIM, S.Y.; KIM, S.W. Alpha-Lipoic acid prevents cisplatin-induced acute kidney injury in rats. **Nephrol Dial Transplant**. v. 24, p. 2692–2700, 2009.

BEHLING, E.B. et al. Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. **Pharmacol Rep.** v. 58, n. 4, p. 526-32, 2006.

BEILKE, M.A.; COLLINS-LECH, C.; SOHNLE, P.G. Effects of dimethyl sulfoxide on the oxidative function of human neutrophils. **J. Lab. Clin. Med.** v. 110, p. 91–96, 1987.

BELEH, M. A.; LIN, Y. C.; BRUEGGEMEIER, R. W. Estrogen metabolism in microsomal, cell, and tissue preparations of kidney and liver from Syrian hamsters. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 52, n. 5, p. 479– 489, 1995.

BELLOMO, R.; KELLUM J. A.; RONCO C. Acute kidney injury. **Rev. Lancet.**, v. 380. p. 756-766, 2012.

BHAT, et al. Understanding the Risk Factors and Long-Term Consequences of Cisplatin-Associated Acute Kidney Injury: An Observational Cohort Study. **PLoS One**. v. 10, n. 11, 2015.

BISHR, A.; SALLAM, N.; EL-DIN, M.N.; AWAD, A.S.; KENAWY, S.A. Ambroxol attenuates cisplatin-induced hepato and nephrotoxicity via inhibition of p-JNK/p-ERK. **Can J Physiol Pharmacol**. v. 97, p. 55-64, 2019.

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.

BOOZARI, M.; HOSSEINZADEH, H. Natural medicines for acute renal failure: A review. **Phytotherapy Research**. p. 1–12, 2017.

BORGES, K.E. Exames de função renal utilizados na medicina veterinária. *Ver científica eletrônica de med vet*, n. 11, 2008.

BRADLEY, P.P. et al. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**, v. 60, p. 618–622, 1982.

BREEMEN, R.B.; TAO, Y.; LI, W. Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (*Zingiber officinale*). **Fitoterapia**, v. 82, n. 1, p. 38–43, 2011.

BRITO, M.V.H. et al. Efeito do óleo de copaíba nos níveis séricos de uréia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 243-246, 2005.

BULACIO, R.P.; ANZAI, N.; OUCHI, M.; TORRES, A.M. Organic anion transporter 5 (oat5) urinary excretion is a specific 52 biomarker of kidney injury: Evaluation of urinary excretion of exosomal Oat5 53 after N-acetylcysteine prevention of cisplatin induced nephrotoxicity. **Chem Res Toxicol**. v. 28, ed. 8, p. 1595-602, 2015.

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.

CARDOSO, G. B. et al. Recuperação de pacientes com lesão renal aguda dialítica e não dialítica. **Cogitare Enferm**. v. 22, p. 01-09, 2017.

CETIN, R.; DEVRIM, E.; KILIÇOĞLU, B.; AVCI, A.; CANDIR, O.; DURAK, I. Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods. **J Appl Toxicol**, v. 26, p. 42-6, 2006.

CETINKAYA, A.; KURUTAS, E. B.; BULBULOGLU, E.; KANTARCEKEN, B. The effects of n-acetylcysteine on methotrexate-induced oxidative renal damage in rats. **Nephrol Dial Transplant**. v. 22, p. 284-5, 2007.

CHANG, K.; KUO, C. 6-Gingerol modulates proinflammatory responses in dextran sodium sulfate (DSS)-treated Caco-2 cells and experimental colitis in mice through adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activation. **Food Funct**. v. 6, n. 10, p. 3334-41, 2015.

CHEN, W. et al. Cisplatin Nephrotoxicity Might Have a Sex Difference. An analysis Based on Women's Sex Hormone Changes. **Journal of Cancer**, v. 8, p. 3939-44, 2017.

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, n. 3, p. 223-42, 2009.

CHIRINO, Y.I.; TRUJILLO, J.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, D.J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, C.M.; CRUZ, C.; BOBADILLA, N.A. Selective iNOS inhibition reduces renal damage induced by cisplatin. **Toxicol Lett.**, v. 4, n. 176, p. 48-57, 2008.

CHOI, H. et al. Structure–Activity Relationships of 6- and 8-Gingerol Analogs as Anti-Biofilm Agents. **J. Med. Chem.**, v. 60, p. 9821–9837, 2017.

CIARIMBOLI, G.; KOEPESELL, H.; IORDANOVA, M.; GORBOULEV, V.; DURNER, B.; LANG, D.; EDEMIR, B.; SCHROTE, R.; VAN, L.E.T.; SCHLATTER, E. Individual PKC-phosphorylation sites in organic cation transporter 1 determine substrate selectivity and transport regulation. **J Am Soc Nephrol.** v. 16, p. 1562–1570, 2005.

CLARK, J.S.; FAISAL, A.; BALIGA, R.; NAGAMINE, Y.; ARANY, I. Cisplatin induces apoptosis through the ERK-p66shc pathway in renal proximal tubule cells. **Cancer Lett.** v. 297, p. 165–170, 2010.

COSTA, J. A. C.; VIEIRA-NETO O. M.; NETO, M. M. Insuficiência Renal Aguda. Simpósio: **Medicina, Ribeirão Preto.** v. 36, p. 307-324, 2003.

CULY C. R.; SPENCER C.M. Amifostine: an update on its clinical status as a cytoprotectant in patients with cancer receiving chemotherapy or radiotherapy and its potential therapeutic application in myelodysplastic syndrome. **Drug.** v. 61, p. 641-684, 2001.

DALLACOSTA, F. B. et al. Detecção precoce de doença renal crônica em população de risco. **Cogitare Enferm.** v. 22, ed. 2. 2017.

DAUGAARD, G. et al. Renal tubular function in patients treated with high-dose cisplatin. **Clin Pharmacol Ther.** v. 44, n. 2, p. 164-72, 1988.

DEBIASI, C.; FELTRIN, F.; MICHELUZZI, F.C. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **R. bras. Agrociência,** v. 10, n. 1, p. 61-65, 2004.

DECLOEDT, E.; MARTENS, G. Drug-induced renal injury: The kidney plays an important role in the elimination of many drugs and their metabolites. **Jor Continuing Medical Education.** v. 29, n. 6, 2011.

DEL RIO, D., STERWART, A. J., PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.** v. 15, p. 316-28, 2005.

DELBANCUT, A.; LAGROYE, I.; CAMBAR, J. Renal cytotoxicity of cisplatin in cultured glomerular mesangial and proximal and distal tubular cells. **Toxicol In Vitro.** v. 8, p. 517–519, 1994.

DICKEY, D.T.; MULDOON, L.L.; DOOLITTLE, N.D. et al. Effect of N-acetylcysteine route of administration on chemoprotection against cisplatin-induced toxicity in rat models. **Anc Sci Life,** v. 62, p. 235-41, 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. 1052-8, 2005.

DIPIRO, J., et al. Pharmacotherapy - A pathophysiologic Approach (7^a Edição ed.). **McGrawHill Medical**, 2010.

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

DOGUKAN, A Tomato Lycopene Complex Protects the Kidney From Cisplatin-Induced Injury via Affecting Oxidative Stress as Well as Bax, Bcl-2, and HSPs. **Expression. Nutrition and Cancer**, v. 63, n. 3, p. 427–434, 2011.

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. 545-9, 2010.

DOS SANTOS, O.F.; BOIM, M.A.; BARROS, E.J.; PIROTZKY, E.; BRAQUET, P.; SCHOR, N. Effect of platelet-activating factor antagonist BN 52063 on the nephrotoxicity of cisplatin. **Lipids**. v. 26, p. 1324–1328, 1991.

DRIESSEN, C. et al. Degree of nephrotoxicity after intermediate or high-dose cisplatin-based chemoradiotherapy (CRT) in patients with locally advanced head and neck cancer. **Head Neck**. v. 38, p. 1575-81, 2016.

DUFFY, E. A. et al. Nephrotoxicity: Evidence in patients receiving cisplatin therapy. **Clinical journal of oncology nursing**. v. 22, n. 2, 2018.

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.

DUPRE, T. V.; DOLL, M. A.; SHAH, P. P.; SHARP, C. N.; KIEFER, A.; SCHERZER, M. T.; SAURABH, K.; SAFORO, D.; SIOW, D.; CASSON, L.; ARTEEL, G.E.; JENSON, A. B.; MEGYESI, J.; SCHNELLMANN, R. G.; BEVERLY, L. J.; SISKIND, L. J. Suramin protects from cisplatin-induced acute kidney injury. **Am J Physiol Renal Physiol** v. 310, p. 248–258, 2016.

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

EDELSTEIN, C. T. Biomarkers of Acute Kidney Injury. **J Adv Chronic Kidney Dis.**, v. 15, ed. 3, p. 222–234, 2012.

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

ELSEWEIDY, M.M.; Zaghloul, M.S.; Younis, N.N. 10-DHGD ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 83, p. 241-246, 2016.

EMANUELLI, M.P. et al. Concentração sérica de fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, uréia e creatinina em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 251-255, 2008.

ESHRAHGI-JAZI, F.; NEMATBAKHS, M.; NASRI, H. et al. 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. 1389-96, 2011.

ESTRELA, G. R. Papel do receptor b1 de cininas na lesão renal aguda induzida por cisplatina. **Dissertação de Mestrado.** São Paulo: Escola Paulista de Medicina, 2013.

EUSHATER, A.; SALMAN, M.M.A.; MOUSSA, M.M.A. Effect of Ginger Extract Consumption on levels of blood Glucose, Lipid Profile and Kidney Functions in Alloxan Induced-Diabetic Rats. **Egypt. Acad. J. biolog. Sci.** v. 2, n. 1, p. 153-162, 2009.

EZZAT, S. M. et al. The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent in vivo and in vitro anti-inflammatory activity. **J Ethnopharmacol,** v. 214, p. 113-123, 2018

FAUBEL, S. et al. Caspase-1-deficient mice are protected against cisplatin-induced apoptosis and acute tubular necrosis. **Kidney International,** v. 66, p. 2202–2213, 2004.

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.

FERNÁNDEZ CA, YAN L, LOUIS G, YANG J, KUTOK JL, MOSES MA. The matrix metalloproteinase-9/neutrophil gelatinase-associated lipocalin complex plays a role in breast tumor growth and is present in the urine of breast cancer patients. **Clin Cancer Res.** v. 11, n. 15, p. 5390-5, 2005.

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. **Dissertação de Mestrado.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2017.

FRANCESCATO, D. C. et al. Parthenolide reduces cisplatin-induced renal damage. **Toxicology,** v. 230, p. 64–75, 2007.

FRANCESCATO, D. C. et al. Treatment with a p38 MAPK inhibitor attenuates cisplatin nephrotoxicity starting after the beginning of renal damage. **Life Sciences,** v. 84, p. 590–597, 2009.

GIRARDI, G.; ELIAS, M.M. Effectiveness of N-acetylcysteine in protecting against mercuric chloride-induced nephrotoxicity. **Toxicology,** v. 67, p. 155-164, 1991

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.

GÓMEZ-SIERRA, T. et al. Role of food-derived antioxidants against cisplatin induced-nephrotoxicity. **Food and Chemical Toxicology.** v. 120. p. 230–242, 2018

GORDON, J.A. et al. γ -Glutamyl Transpeptidase Excretion in Cisplatin-Induced Acute Renal Failure. **American Journal of Kidney Diseases,** v. 8, n. 1, p. 18-25, 1986.

GRZANNA, R.; LINDMARK, L.; FRONDOZA, C. G. Ginger - An Herbal Medicinal Product with Broad Anti-Inflammatory Actions. **J Med Food,** v. 8, ed. 2, p. 125–132, 2005.

GUIMARÃES F. B. Avaliação da atividade da gama glutamil transpeptidase urinária em cães que receberam gentamicina em dose terapêutica. 2000. **Tese de Doutorado**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2000.

GUNDALA, S. R. Enterohepatic recirculation of bioactive ginger phytochemicals is associated with enhanced tumor growth-inhibitory activity of ginger extract. **Carcinogenesis**. v. 35, n. 6, p.1320–1329, 2014.

GUO, X.; NZERUE, C. How to prevent, recognize, and treat drug-induced nephropathy. **Cleve Clin J Med.**, v. 69, n. 4, p. 289–297, 2002.

HAGHIGHI, M.; NEMATBAKHSH. M.; TALEBI, A. et al. 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. 1046-51, 2012.

HAMAD, Honey feeding protects kidney against cisplatin nephrotoxicity through suppression of inflammation. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, v. 42, n. 8, p. 843-8, 2015.

HAN, W.K. et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney International**, v. 62, p. 237–244, 2002.

HARTY, L.; JOHNSON, K. POWER A. Race and ethnicity in the era of emerging pharmacogenomics. **J Clin Pharmacol**. v. 46, p. 405-407, 2006.

HAYATI, F. et al. Prevention of cisplatin nephrotoxicity. **J Nephroarmacol.**, v. 5, p. 57–60, 2016.

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**, n. 48, p. 208–216, 2016.

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

HIRAMA, M.; ISONISHI, S.; YASUDA, M.; ISHIKAWA, H. Characterization of mitochondria in cisplatin-resistant human ovarian carcinoma cells. **Oncol. Rep.**, v. 16, p. 997-1002, 2006.

HOESCHELE, D. H. Biography of Professor Barnett Rosenberg: A Tribute to His Life and His Achievements. **Anticancer research.**, v. 34, p. 417-422, 2014.

HORNE, K.L. et al. Three-year outcomes after acute kidney injury: results of a prospective parallel group cohort study. **Jor BMJ Open**. v. 7, ed. 3, 2017.

HOSTE, A.J.E et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. **Critical Care**. v. 10, n. 3, p. 1-10, 2006.

HOSTE, A.J.E. et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. **Intensive Care Med**. v. 41, p. 1411-1423, 2015.

HU, M.H.; WANG, L.W.; CHU, P.Y.; TAI, S.K.; LEE, T.L.; CHEN, M.H.; YANG, M.H.; CHANG, P.M. Cisplatin-based chemotherapy versus cetuximab in concurrent chemoradiotherapy for locally advanced head and neck cancer treatment. **BioMed Res. Int.** v. 2014, p. 1–7, 2014.

HU, Y. et al. The Protective Role of Selenium on the Toxicity of Cisplatin-Contained Chemotherapy Regimen in Cancer Patients. **Biological Trace Element Research**, v. 56, 1997.

HUANG, H.C.; CHIU, S.H.; CHANG, T.M. Inhibitory effect of [6]-gingerol on melanogenesis in B16F10 melanoma cells and a possible mechanism of action. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v. 75, p. 1067–1072, 2011.

HUANG, H. et al. [8]-Gingerol inhibits melanogenesis in murine melanoma cells through down-regulation of the MAPK and PKA signal pathways. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 438, n. 375–381, 2013.

ICHIMURA, T; BROOKS, C.R.; BONVENTRE, J.V. Kim-1/ Tim-1 and immune cells: shifting sands. **Kidney International**, v. 81, p. 809-811, 2012.

IPPOUSHI, K.; AZUMA, K.; ITO, H.; HORIE, H.; HIGASHIO, H. [6]-Gingerol inhibits nitric oxide synthesis in activated J774.1 mouse macrophages and prevents peroxynitrite-induced oxidation and nitration reactions. **Life Sci**, v. 73, p. 3427–3437, 2003.

IPPOUSHI, K.; ITO, H.; HORIE, H.; AZUMA, K. Mechanism of inhibition of 1 peroxynitrite-induced oxidation and nitration by [6]-gingerol. **Planta Med**, v. 71, p. 563–566. 2005.

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 USA**. v. 99, n. 22, p. 14298–14302, 2002.

ISNARD-BAGNIS, C.; MOULIN, B.; LAUNAY-VACHER, V.; IZZEDINE, H.; TOSTIVINT, I.; DERAY, G. Anticancer drug-induced nephrotoxicity. **Nephrol Ther** v. 1, n. 2, p. 101–114, 2005.

JIANG, M. et al. Regulation of PUMA-alpha by p53 in cisplatin-induced renal cell apoptosis. **Oncogene**, v. 25, p. 4056–4066, 2006.

JIANG, M.; DONG, Z. Regulation and pathological role of p53 in cisplatin nephrotoxicity. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 327, p. 300-7, 2008.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SÁNCHEZ-MUÑIZ, F.J. Dietary fiber from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. **Nutr.Res.**, v.20, n.4, p. 595-598, 2000.

JOLAD, S. D.; LANTZ, R. C.; CHEN, G. J.; BATES, R. B. Commercially processed dry ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-stimulated PGE 2 production. **Phytochemistry**, v.66, n.13, p.1614-1635, 2005

JOSHI, D.; SRIVASTAV, S.K.; SATEESH 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. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, n. 91, p. 645–655, 2017.

KANDEMIR, F.M. et al. Therapeutic efficacy of zingerone against vancomycin-induced oxidativestress, inflammation, apoptosis and aquaporin 1 permeability in rat kidney. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 105, p. 981–991, 2018.

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

KASHERMAN, Y., STURUP, S., GIBSON, D. Trans labilization of am(m)ine ligands from platinum(II) complexes by cancer cell extracts. **J. Biol. Inorg. Chem.** 14, 387–399, 2009.

KATZUNG, Bertram G. Farmacologia básica e clínica. 12. ed. Porto Alegre: **AMGH**, 2014.

KHAN, A.H. et al. Novel orally active epoxyeicosatrienoic acid (EET) analogs attenuate cisplatin nephrotoxicity. **FASEB J**, v. 27, n. 8, p. 2946–2956, 2013.

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

KIM, Y. H. et al. The anti-inflammatory effects of methylsulfonylmethane on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. **Biol. Pharm. Bull.** v. 32, p. 651–656, 2009.

KIMANI, N. L. et al. *In-Vivo* Oral and Intraperitoneal Administration of Extract from *Vernonia lasiopus*. **Med. Aromat. Plants.** v. 6, ed. 6, 2017

KJELDSEN, L.; BAINTON, D.F.; SENGELOV, H.; BORREGAARD, N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. **Blood.** v. 83, n. 3, p. 799-807, 1994.

KOBAYASHI, M. et al. Cardiotonic action of [8]-gingerol, an activator of the Ca⁺⁺-pumping adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum, in guinea pig atrial muscle. **J Pharmacol Exp Ther.** v. 246, n. 2, p. 667-73, 1988.

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.

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. Therapeut.** v. 280, n. 2, 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, G. et al. Magnesium improves cisplatin-mediated tumor killing while protecting against cisplatin-induced nephrotoxicity. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 313, p. 339–F350, 2017.

KUMAR, G.; KARTHIK, L.; RAO, K.V.B. A Review on Pharmacological and Phytochemical Properties of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). **Journal of Pharmacy Research.** v.

4, ed. 9, 2011.

LAGO, M.W.; MORESCO, R. N.; BOCHI, G.V. Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL) como um biomarcador de lesão renal: uma revisão. **Rev Inst Adolfo Lutz.**; v. 75, n. 1684, 2016.

LEAL, T.L. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **R. Bras. Zootec.**, v. 36, n. 4, p. 905-911, 2007.

LEE K., KANG, D. Stability and Intra-Individual Variation of Urinary Malondialdehyde and 2-Naphthol. **J Prev Med Public Health**, v. 41, ed. 3, p.195-199, 2008.

LEE, J. et al. Antibiofilm and Antivirulence Activities of 6-Gingerol and 6-Shogaol Against *Candida albicans* Due to Hyphal Inhibition. **Front Cell Infect Microbiol**. Aug v. 28, n. 299, 2018.

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.

LEVI, T. M. et al. Comparação dos critérios RIFLE, AKIN e KDIGO quanto à capacidade de predição de mortalidade em pacientes graves. **Rev Bras Ter Intensiva**. v. 25, ed. 4, p. 290-296, 2013.

LEWINGTON, A. J. P. et al. Raising Awareness of Acute Kidney Injury: A Global Perspective of a Silent Killer. **Kidney Int**. v. 84, ed. 3, p.457–467, 2014.

LI, S.; WU, P.; YARLAGADDA, P.; VADJUNEC, N.M.; PROIA, A.D.; HARRIS, R.;A.; PORTILLA, D. PPAR alpha ligand protects during cisplatininduced 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.

LI, W.; WANG, L.; HE, H.; CHEN, J.; YU, Y. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in low osmolar contrast-induced nephropathy in rats and the effect of N-acetylcysteine. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 12, p. 3175-3180, 2016.

LIANGOS, O.; TIGHIOUART, H.; PERIANAYAGAM, M.C.; KOLYADA, A.; HAN, K.K.;WALD, K.; BONVENTRE, J.V.; JABER, B.L.Comparative Analysis of Urinary Biomarkers for Early Detectionof Acute Kidney Injury Following Cardiopulmonary Bypass. **Biomarkers**, v. 14, p. 423–431, 2009.

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, R.M.T. et al. Protective and therapeutic potential of ginger (*Zingiber officinale*) extract and [6]-gingerol in cancer: A comprehensive review. **Phytotherapy Research**, p. 1–23, 2018.

LIN, H.Y. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels predict cisplatin-induced acute kidney injury better than albuminuria or urinary cystatin C levels. **Kaohsiung Journal of Medical Sciences**, v. 29, p. 304-311, 2013.

- LIU, M. et al. Transcription factor Nrf2 is protective during ischemic and nephrotoxic acute kidney injury in mice. **Kidney International**. v. 76, p. 277–285, 2009.
- LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)). **Method. Methods.**, v. 25, p. 402-408, 2001.
- LU, J. et al. Immunosuppressive Activity of 8-Gingerol on Immune Responses in Mice. **Molecules**, v. 16, p. 2636-2645, 2011.
- LUKE, D.R.; VADIEI, K.; LOPEZ-BERESTEIN, G. Role of vascular congestion in cisplatin-induced acute renal failure in the rat. **Nephrol Dial Transplant**. v. 7, p. 1–7. 1992.
- LUO, J. et al. The molecular mechanisms of the attenuation of cisplatin-induced acute renal failure by N-acetylcysteine in rats. **Nephrol Dial Transplant**, v. 23, p. 2198–2205, 2008.
- MACH, C. M. et al. A retrospective evaluation of furosemide and mannitol for prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 42, p. 286–291, 2017.
- MAGRO, M.C.S.; VATTIMO, M. F. Avaliação da Função Renal: Creatinina e outros Biomarcadores. **Rev Bras de Terapia Intensiva**. v. 9, n. 2, p. 182-185. 2007
- MAHADY, G.B., PENDLAND, S.L., YUN, G.S., LU, Z.Z., STOIA, A. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the gingerols inhibit the growth of Cag A+ strains of *Helicobacter pylori*. **Anticancer Res**. v. 23, p. 3699–3702, 2003.
- 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.
- MANSOUR, M.A. et al. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 132, p. 123–128, 2002.
- 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 bioenergetics functions. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. 1–15. 2013
- MAZZON, E. et al. Effect of N-acetylcysteine on gentamicin-mediated nephropathy in rats. **European Journal of Pharmacology**. v. 424, p. 75–83, 2001.
- McDUFFIE, J.E. et al. Time Course of Renal Proximal Tubule Injury, Reversal, and Related Biomarker Changes in Rats Following Cisplatin Administration. **International Journal of Toxicology**, v. 32, n. 4, p. 251-260, 2013.
- 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.

MEGYESI, J.; SAFIRSTEIN, R.L.; PRICE, P.M. Induction of p21 WAF1/CIP1/SDI1 in kidney tubule cells affects the course of cisplatin-induced acute renal failure. **J. Clin. Invest.**, v. 101, p. 777–782, 1998.

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.

MELO D. A. S. Evaluation of renal enzymuria and cellular excretion as an marker of acute nephrotoxicity due to an overdose of paracetamol in Wistar rats. **Clinica Chimica Acta**, v. 373, p. 88-91, 2006.

MESOMO, M. C. Obtenção de extrato de gengibre (*zingiber officinale roscoe*) usando CO₂ supercrítico e propano comprimido: cinética de extração e atividade biológica. **Tese de doutorado**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

METHA, R. L. et al. Phenotype standardization for drug-induced kidney disease. **Kidney Int.** v. 88, n. 2, p. 226–234, 2015.

METHA, R. L.; KELLUM, J. A.; SHAH, S. V.; MOLITORIS, B. A.; RONCO, C; WARNOCK, D. G.; LEVIN, A. ; NETWORK, A. K. I. Research Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. **Rev. Critical Care.**, v. 11, n. 2, p. 1-8, 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.

MISHRA, J.; MA, Q.; MORI, K. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: A Novel Early Urinary Biomarker for Cisplatin Nephrotoxicity. **Am J Nephrol**, v. 24, p. 307–315 2004.

MISHRA, A.; CHATTERJEE, U.S.; MANDAL, T.K. Induction of chronic renal failure in goats using Cisplatin: a new animal model. **Toxicol Int.**, v. 20, n. 1, p. 56-60, 2013.

MUKKAVILLI, R. et al. Absorption, Metabolic Stability, and Pharmacokinetics of Ginger Phytochemicals. **Molecules.**, v. 22, n. 553, 2017.

MUNAR, M. Y.; SINGH, H. Drug Dosing Adjustments in Patients with Chronic Kidney Disease. **American Family Physician**. v. 75, n. 10. 2007.

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. 165-75, 2011.

NAKAMURA, T. et al. Disruption of multidrug and toxin extrusion MATE1 potentiates cisplatin-induced nephrotoxicity. **Biochemical Pharmacology**, v. 80, p. 1762–1767, 2010.

NASH, M. D. K. et al. Hospital-Acquired Renal Insufficiency. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 39, n. 5, p. 930-936, 2002.

NASRI, H.; NEMATBAKHS, M. Preventive and Curative Effects of Ginger Extract Against Histopathologic Changes of Gentamicin-Induced Tubular Toxicity in Rats. **Journal of**

Preventive, v. 4, p.315-321, 2013.

NEMATBAKHS, M. Response to "Nephrotoxicity: Evidence in Patients Receiving Cisplatin Therapy. **Clinical journal of oncology nursing**. v. 22, n. 5, p. 477-478. 2018.

NEMATBAKHS, M.; PEZESHKI, Z.; ESHRAGHI-JAZI, F. et al. 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, 2012.

NETO, A.G.S. Estudo dos efeitos Vasculares e Renais Causado pelo 6-ginegrol Isolado do Gengibre. **Dissertação de Mestrado**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2012.

NEWMAN, D.J. Natural Products as Leads to Potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug Discovery? **J. Med. Chem**, v. 51, p. 2589–2599, 2008.

NISAR, S.; FEINFELD, D.A. N-acetilcisteína como terapia de resgate na nefrotoxicidade da cisplatina. **Insuficiência renal**, v. 24, p. 529-33, 2002.

NUNES, T. F. Insuficiência renal aguda. Simpósio: **Medicina, Ribeirão Preto**. v. 43, ed. 3, p. 272-281, 2010.

NURTJAHJA-TJENDRAPUTRA, E. et al. Effective anti-platelet and COX-1 enzyme inhibitors from pungent constituents of ginger. **Thrombosis Research**, v. 111, p. 259–265, 2003.

OJHA, S. et al. Plant-Derived Agents for Counteracting Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2016, 2016

OLIVEIRA, R.B. et al. Síntese, avaliação biológica e modelagem molecular de arilfuranos como inibidores da enzima tripanotona redutase. **Quim. Nova**, v. 31, n. 2, p. 261-267, 2008.

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.

PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: Mechanisms and renoprotective strategies. **Kidney International**. 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.

PANNU, N.; NADIM, M.K. An overview of drug-induced acute kidney injury. **Crit Care Med**. v. 36, n. 4, 2008.

PATSCHAN, D.; MÜLLER G. A. Acute kidney injury. **Jor Inj Violence Res**. v. 7, ed. 1, p. 19-26. 2015

PAZHAYATTILE, S. G.; SHIRALI, A. C. Drug-induced impairment of renal function. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**. v. 7, 2014.

PECOITS-FILHO, R. Diagnóstico de Doença Renal Crônica: Avaliação da Função Renal. **J**

Bras Nefrol, v. 26, n. 3, 2004.

PERAZELLA, M.A. Renal Vulnerability to Drug Toxicity. **Clin J Am Soc Nephrol**. v 4, p. 1275–1283, 2009.

PEREIRA-FILHO, G. et al. Role of N-acetylcysteine on fibrosis and oxidative stress in cirrhotic rats. **Arq Gastroenterol**. v. 45, n. 2, p. 156-162, 2008.

PERES, L.A.B. et al. Biomarcadores da injúria renal aguda. **J Bras Nefrol**, v. 35, ed. 3 p. 229-236, 2013.

PERES, L.A.B.; CUNHA, A. D. Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: Mecanismos moleculares. **J Bras Nefrol**, v. 35, n. 4, p. 332-340, 2013.

PLOTNIKOV, E.Y. et al. The role of oxidative stress in acute renal injury of newborn rats exposed to hypoxia and endotoxin. **The FEBS Journal**, v. 284, p. 3069–3078, 2017.

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

PRATO, T.S. Influência da secagem sobre compostos medicinais e de pungência do gengibre. **Dissertação de Mestrado**. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2010.

QIN, X. et al. Embelin attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity: Involving inhibition of oxidative stress and inflammation in addition with activation of Nrf-2/Ho-1 pathway. **Biofactors**, 2019.

QUESADA, A. et al. Urinary Aminopeptidase Activities as Early and Predictive Biomarkers of Renal Dysfunction in Cisplatin- Treated Rats. **Plos one**, v. 7, n. 7, 2012.

RADA, B., GARDINA, P., MYERS, T.G., AND LETO, T.L. Reactive oxygen species mediate inflammatory cytokine release and EGFR-dependent mucin secretion in airway epithelial cells exposed to *Pseudomonas pyocyanin*. **Mucosal. Immunol**, v. 4, n. 2, p. 158-171, 2011.

RAMESH, G.; REEVES, W.B. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 289, p. 166–174, 2005.

RAMESH, G.; REEVES, W.B. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice. **Am J Physiol Renal Physiol**; v. 289, p. 166-74, 2005.

RAMESH, G.; REEVES, W.B. Salicylate reduces cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor- α , **Kidney Int.**, v. 65, p. 490–498, 2004.

RAMESH, G.; REEVES, W.B. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. **Am J Physiol Renal Physiol**. v. 285, p. 610-8, 2003.

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

RANA, S.V.S., ALLEN, T., SINGH, R. Inevitable glutathione, then and now. **Ind. J. Exp.**

Biol. v. 40, p. 706–716, 2002.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **FASEB J.** v. 22, p. 659-61, 2008.

REHMA, M.U. et al. Zingerone (4-(4-hydroxy-3-methylphenyl)butan-2-one) ameliorates renal function via controlling oxidative burst and inflammation in experimental diabetic nephropathy. **Arch Physiol Biochem.** v. 125, n. 3, p. 201-209, 2019.

REN, K.; TORRES, R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. **Brain Res Rev.** v. 60, p. 57–64, 2009.

REWA, O.; BAGSHAW, M. S. Acute kidney injury - epidemiology, outcomes and economics. **Nat Rev Nephrol.** v. 10, ed. 4, p. 193-207, 2014.

RICCI, Z. et al. Classification and staging of acute kidney injury: beyond the RIFLE and AKIN criteria. **Nature Reviews Nephrology.** v. 7, ed. 14, p. 201-208, 2011.

RODRIGUES, F.A. et al. Gingerol suppresses sepsis-induced acute kidney injury by modulating methylsulfonylmethane and dimethylamine production. **Scientific Reports**, v. 8, n. 12154, 2018.

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. Efeitos da fração contendo [6]-, [8]- e [10]-gingerol isolados do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) na nefrotoxicidade induzida por gentamicina em ratos. **Dissertação de Mestrado.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2013.

RODRIGUEZ-BARBERO, A.; L'AZOU, B.; CAMBAR, J.; LÓPEZ-NOVOA, J.M. Potential use of isolated glomeruli and cultured mesangial cells as in vitro models to assess nephrotoxicity, **Cell Biol Toxicol**, v. 16, p. 145–153, 2000.

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

ROY, K.A. et al. A Comparison of Traditional and Novel Definitions (RIFLE, AKIN, and KDIGO) of Acute Kidney Injury for the Prediction of Outcomes in Acute Decompensated Heart Failure. **Cardiorenal Med.** v. 3, p. 26–37, 2013

RUSSO, J.I.S. Nefrotoxicidade Induzida por Fármacos: Caracterização da Realidade Hospitalar, Medidas Preventivas e Oportunidades de Intervenção. **Dissertação de Mestrado.** Lisboa: Universidade de Lisboa, 2013.

SAHU, B.D. et al. Hesperidin attenuates cisplatin-induced acute renal injury by decreasing oxidative stress, inflammation and DNA damage. **Phytomedicine**, v. 20, p. 453-460, 2013.

SANCHO-MARTÍNEZ, S.M et al. N-acetylcysteine transforms necrosis into apoptosis and affords tailored protection from cisplatin cytotoxicity. **Toxicol Appl Pharmacol.** v. 15, n. 349, p. 83-93, 2018.

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

SANTOS, N. A. G. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. **Arch Toxicol.** v. 86, p. 1233–1250, 2012

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

SANTOS, T.C.S. Extração de compostos bioativos de *Zingiber officinale* Roscoe e avaliação da sua atividade frente a fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Lagarto: Universidade federal de Sergipe, 2018.

SASTRY, J.; KELLIE, S.J. Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine. **Pediatric hematology and oncology.** v 22, p. 441-445, 2005.

SCHMIDT-OTT, K. M. et al. Dual Action of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 2, p. 407–413, 2007.

SEDLAK, J.; LIDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SETH, R.; YANG, C.; KAUSHAL, V.; SHAH, S.V.; KAUSHAL, G.P. p53-dependent caspase-2 activation in mitochondrial release of apoptosis-inducing factor and its role in renal tubular epithelial cell injury. **J. Biol. Chem.**, v. 280, p. 31230–31239, 2005.

SHAHRBAF, F. G.; ASSADI, F. Drug-induced renal disorders. **J Renal Inj Prev.**; v. 4, ed.3, p. 57-60, 2015.

SHALBY, A.B. et al. Possible mechanisms for N-acetyl cysteine and taurine in ameliorating acute renal failure induced by cisplatin in rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 21, ed. 7, p. 538–546, 2011.

SHAREEF, H. et al. Antibacterial Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) Roscoe and Bioactive Chemical Analysis using Gas Chromatography Mass Spectrum. **Orient. J. Chem.** v. 32, n. 2, p. 817-837, 2016.

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

SHARP, C.N., DOLL, M.A., DUPRE, T.V., SHAH, P.P., SUBATHRA, M., SIOW, D., ARTEEL, G.E., MEGYESI, J., BEVERLY, L.J., SISKIND, L.J. Repeated administration of low-dose cisplatin in mice induces fibrosis. **Am. J. Physiol. Ren. Physiol.** v. 310, n. 6, p. 560–568, 2016.

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.

SHERIF, M.H.; ABAS, A.M.; ZAITOUN, L.A. Ginger extract protect Iodinated Contrast Media Nephrotoxicity in rats through modulation of Oxidative Stress, Cystain C, NGAL and TNF α . **Research J. Pharm. and Tech.** v. 11, ed. 12, 2018.

SHIRAIISHI, F.; CURTIS, L.M.; TRUONG, L.; POSS, K.; VISNER, G.A.; MADSEN, K. Heme oxygenase-1 gene ablation or expression modulates cisplatin-induced renal tubular apoptosis. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 278, p. 726-36, 2000.

SILVA, E.G.B.; BRACHT, A.M.K. Creatina, função energética, metabolismo e suplementação no esporte. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 12, n. 1, p. 27-33, 2001.

SILVA, J.A.; BECCENERI, A.B.; MUTTI, H. S.; MARTIN, A.C.M.; SILVA, M.F.F.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; COMINETTI, M.R. Purification and differential biological effects of ginger-derived substances on normal and tumorcell lines. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.**, v. 15, p. 157-62, 2012.

SINGH, A. et al. Experimental advances in pharmacology of gingerol and analogues. **Pharmacie Globale (IJCP)**, v. 2, n. 4, 2010.

SINGH, N.P.; GANGULI, A.; PRAKASH, A. Drug-induced kidney diseases. **JAPI**, v. 51, p. 970–979, 2003.

SINHA, V. et al. 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. **Journal of Investigative Medicine**, v. 61, n. 3, 2013.

SINHA, K.; SADHUKHAN, P.; SAHA, S.; PAL, P.B.; AND SIL, P.C. Morin protects gastric mucosa from nonsteroidal anti-inflammatory drug, indomethacin induced inflammatory damage and apoptosis by modulating NF- κ B pathway. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1850, n. 4, p. 769-783, 2015.

SIROTA, J.C.; KLAWITTER, J.; EDELSTEIN, C.L. Biomarkers of acute kidney injury. **J Toxicol.** v. 2011, n. 328120, 2011.

SLOCUM, J.L.; HEUNG, M.; PENNATHU, S. Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine? **Transl Res.** v. 159, p. 277-89, 2012.

SOMANI, S.M.; HUSAIN, K.; WHITWORTH, C.; TRAMMELL, G.L.; MALAFA, M.; RYBAK, L.P. Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin induced nephrotoxicity in rats: Antioxidant defense system. **Pharmacol Toxicol**, v. 86, p. 234-41, 2000.

SOMPAKDEE V. et al. Suppression of Nrf2 confers chemosensitizing effect through enhanced oxidant-mediated mitochondrial dysfunction. **Biomedicine & Pharmacotherapy.** v. 101, p. 627–634, 2018.

TAKEDA, M.; KOBAYASHI, M.; SHIRATO, I.; OSAKI, T.; ENDOU, H. Cisplatin-induced apoptosis of immortalized mouse proximal tubule cells is mediated by interleukin-1 beta converting enzyme (ICE) family of proteases but inhibited by overexpression of Bcl-2. **Arch.**

Toxicol., v. 71, p. 612–621, 1997.

TAYEM, Y.; JOHNSON, T.R.; MANN, B.E.; GREEN, C.J.; MOTTERLINI, R. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by a carbon monoxide-releasing molecule. **Am J Physiol Renal Physiol**. v. 290, p. 789-94, 2006.

TIMMEREN, M.M.V. et al. Tubular injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. **Journau of Patthology**, v. 212, p. 209-217.

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. **Bioorg. Chem**. v. 29, p. 156–163, 2001.

TOPCU-TARLADACALISIR, Y.; SAPMAZ-METIN, M.; KARACA, T. Curcumin counteracts cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing renal tubular cell apoptosis. **Renal failure**, v. 38, n. 10, p. 1741–1748, 2016.

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, n. 1, p. 1–10, 2003.

TRIPATHI, S.; BRUCH, D.; KITTUR, D. S. Ginger extract inhibits LPS induced macrophage activation and function. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 8, p.1-7, 2008.

TRUJILLO, J.; CHIRINO, Y.I.; MOLINA-JIJÓN, E.; ANDÉRICA-ROMERO, A.C.; TAPIA, E.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: recent findings. **Redox Biol.**, v. 1, p. 448–456, 2013.

TSURUYA, K. et al. Direct involvement of the receptor-mediated apoptotic pathways in cisplatin-induced renal tubular cell death. **Kidney Int.**, v. 63, p. 72–82, 2003.

TSURUYA, K., TOKUMOTO, M., NIMOMIYA, T., HIRAKAWA, M., MASUTANI, K., TANIGUCHI, M., FUKUDA, K., KANAI, H., HIRAKATA, H., IIDA, M. Antioxidant ameliorates cisplatin induced renal tubular cell death through inhibition of death receptor-mediated pathways. **Am. J. Physiol. Ren. Physiol.**, v. 285, p. 208–21, 2003.

TUAN, B. T. Relação do estresse oxidativo com a excreção de cisplatina e nefrotoxicidade em pacientes com câncer de cabeça e pescoço tratados com altas doses de cisplatina e radioterapia. 2014. Dissertação (**Mestrado em Ciências Médicas**). – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2014.

ULRICH, C.M.; BIGLER, J.; POTTER, J.D. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: promise, perils and pharmacogenetics. **Nature Reviews**. v. 6, p. 130–140, 2006.

VANNUCCHI, H. et al. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina, Ribeirão Preto**. v. 31, p. 31-44, 1998.

VIEIRA, N.A. et al. Efeito anti-inflamatório do gengibre e possível via de sinalização. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 149-162, 2014.

VINKEN, P. et al. Tissue Kim-1 and Urinary Clusterin as Early Indicators of Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury in Rats. **Toxicologic Pathology**, v. 40, p. 1049-1062, 2012.

WALKER, P.D.; SHAH, S.V. Reactive oxygen metabolites in endotoxin-induced acute renal failure in rats. **Kidney Int.**, v. 38, p. 1125-32, 1990.

WALKER, R. et al. *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 5. ed. **Livingstone Churchill**. 2012.

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

WANG, S.; ZHANG, C.; YANG, G.; YANG, Y. Biological Properties of 6-Gingerol: A Brief Review. **Natural Product Communications**. v. 9, n. 7, 2014.

WANG, W. et al. Simultaneous determination of 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol and 6-shogaol in rat plasma by liquid chromatography–mass spectrometry: Application to pharmacokinetics. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 671–679, 2009.

WASUNG, M. E.; CHAWLA, L.S.; MADERO, M. Biomarkers of renal function, which and when? **Clin Chim Acta** v. 438, p. 350-357, 2015.

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

WITTE, T.S.; MELKUS, E.; WALTER, I.; SENGE, B.; SCHWAB, S.; AURICH, C.; HEUWIESER, W. Effects of oral treatment with N-acetylcysteine on the viscosity of intrauterine mucus and endometrial function in estrous mares. **Theriogenology**, v. 78, n. 6, p. 1199-1208, 2012.

WU, C.T. et al. Salubrinal, an eIF2 α dephosphorylation inhibitor, enhances cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in a mouse model. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 671–680, 2011.

WU, Y. J.; MULDOON, L.L.; NEUWELT, E.A. The Chemoprotective Agent N-Acetylcysteine Blocks Cisplatin-Induced Apoptosis through Caspase Signaling Pathway. **J Pharmacol Exp Ther**. v. 312, n. 2, p. 424-31, 2005.

WYATT, C.M.; ARONS, R.R.; KLOTMAN, P.E.; KLOTMAN, M.E. Acute renal failure in hospitalized patients with HIV: Risk factors and impact on in-hospital mortality. **AIDS** v. 20, p. 561–565, 2006.

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.

YANG, J.; GOETZ, D.; LI, J.Y.; WANG, W.; MORI, K.; SETLIK, D. et al. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. **Mol Cell**. v. 10, n. 5, p. 1045-56, 2002.

YAO, X. et al. Cisplatin Nephrotoxicity: A Review. **Am J Med Sci**, v. 334, n. 2, p. 115-124, 2007.

YATSU, T.; AOKI, M.; INAGAKI, O. Preventive effect of zelandopam, a dopamine D1 receptor agonist, on cisplatin-induced acute renal failure in rats. **Eur J Pharmacol** v. 461, p. 191–195, 2003.

YILDIRIM, Z.; SOGUT, S.; ODACI, E.; IRAZ, M.; OZYURT, H.; KOTUK, M.; AKYOL, O. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. **Pharmacol Res.** v. 47, p. 149–156, 2003.

YU, C.C.; CHIEN, C.T.; CHANG, T.C. M2 macrophage polarization modulates epithelial-mesenchymal transition in cisplatin-induced tubulointerstitial fibrosis. **Biomed. (Taipei)**, v. 6, n. 1, 2016.

YU, Y. et al. Examination of the Pharmacokinetics of Active Ingredients of Ginger in Humans. **The AAPS Journal**, v. 13, n. 3, 2011.

ZAFARULLAH, M. et al. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. **Cell Mol Life Sci**, v. 60, n. 1, p. 6-20, 2003.

ZHANG, B.; RAMESH, G.; NORBURY, C.C.; REEVES, W.B. Cisplatin- induced nephrotoxicity is mediated by tumor necrosis factor-alpha produced by renal parenchymal cells. **Kidney Int.** v. 72, p. 37-44, 2007.

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

ZHOU, H. et al. Urinary marker for oxidative stress in kidneys in cisplatin-induced acute renal failure in rats. **Nephrol Dial Transplant.** v. 21, p. 616-623, 2006.

ZHOU, J. et al. A comparison of RIFLE, AKIN, KDIGO, and Cys-C criteria for the definition of acute kidney injury in critically ill patients. **Int Urol Nephrol.** v. 48, p. 125–132, 2016.

ZHU, S.; PABLA, N.; TANG, C.; HE, L.; DONG, Z. DNA Damage Response in cisplatin-induced nephrotoxicity. **Arch. Toxicol.** v. 89, n. 12, p. 2197–2205, 2015

ZICK, S. M. et al. Pharmacokinetics of 6-, 8-, 10-Gingerols and 6-Shogaol and Conjugate Metabolites in Healthy Human Subjects. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 17, v. 8, p. 1930–1936, 2008.

ZUK, A.; BONVENTRE, J.V. Acute Kidney Injury. **Annu Rev Med.** v. 67, p. 293–307. 2016.