



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Fármacos de platina no tratamento oncológico. Mecanismos de resistência

Patrícia Maria dos Santos Guerreiro

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:
Professor Doutor João Paulo Gil Lourenço

2024



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Fármacos de platina no tratamento oncológico. Mecanismos de resistência

Patrícia Maria dos Santos Guerreiro

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:
Professor Doutor João Paulo Gil Lourenço

2024

Fármacos de Platina no tratamento oncológico

Mecanismos de resistência

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

[Assinatura do aluno]

Copyright© 2024 Patrícia Maria dos Santos Guerreiro

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

"O impossível é apenas aquilo que não se tentou."

José Saramago.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero expressar a minha mais profunda gratidão aos meus pais, pelo amor incondicional, apoio constante e pelos valores que me transmitiram ao longo da vida. Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado, especialmente ao Daniel Barbosa, que sem ele não estaria aqui hoje. A tua força e apoio fizeram toda a diferença. Um agradecimento especial à Chica, cuja ajuda com os apontamentos foi incansável e essencial. Aos meus afilhados, que sempre me apoiaram e me inspiraram a continuar, mesmo nos momentos mais difíceis.

Quero também agradecer a mim mesma, pela persistência e pela força de vontade, porque aprendi que basta querer para se conseguir, e que só não se faz o que não se tenta. O "não" está sempre garantido, mas o que importa é tentar, e graças a isso, estou aqui hoje.

Um agradecimento especial ao professor João Lourenço, cuja atenção e apoio ao longo da minha dissertação foram fundamentais. As suas orientações e ensinamentos nas aulas de QIF ficarão sempre guardados na minha memória, e ele terá um lugar especial no meu percurso académico.

Finalmente, estou profundamente grata pelas oportunidades que a universidade me proporcionou. Não só me deu a chance de aprender, como me permitiu conhecer futuros colegas de trabalho e, mais importante, amizades para a vida.

A todos, o meu muito obrigada.

Resumo

Na década de 1960, a descoberta da atividade anticancerígena da cisplatina e a sua eficácia clínica despertaram um grande interesse na investigação de compostos de coordenação para tratamento do cancro. Para além da cisplatina, surgiram outros complexos de platina, como a carboplatina e a oxaliplatina. Estes compostos são amplamente utilizados no tratamento de vários tipos de cancro, incluindo testicular, pulmonar, ovário e bexiga.

O mecanismo de ação dos fármacos de platina é bastante complexo, sendo que a formação de adutos inter ou intracadeias com o ADN nuclear é uma das vias mais estudadas e reconhecidas. A formação destes adutos resulta na interrupção dos processos de replicação e transcrição do ADN, promovendo desta forma apoptose. No entanto, o ADN nuclear não é o único alvo, existem outros alvos celulares que contribuem para o efeito dos fármacos de platina. O complexo de cisplatina ataca as mitocôndrias e desencadeia a produção de espécies reativas de oxigénio, destruindo os lisossomas e por sua vez, induzindo a libertação de proteases lisossomais que degradam o retículo endoplasmático. Estes complexos podem ainda, através da formação de adutos com grupos funcionais em proteínas, em particular com átomos de enxofre presentes nos resíduos de cisteína e metionina, alterar a função proteica contribuindo para a morte celular.

Apesar da eficácia comprovada, a resistência aos fármacos de platina representa um grande desafio no meio oncológico. As células cancerígenas podem desenvolver resistência através de diversos mecanismos, como a alteração da captação/efluxo de fármaco, a inativação da cisplatina por moléculas contendo tiol, e a capacidade de regeneração do ADN danificado.

Compreender estes mecanismos de resistência é crucial para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Ao longo desta monografia são demonstrados diversos mecanismos de resistência, bem como formas de ultrapassar e otimizar o tratamento farmacoterapêutico.

Palavras-Chave: Platina; Resistência; Cancro; Tratamento; Cisplatina; Atividade anticancerígena.

Abstract

In the 1960s, the discovery of the anticancer activity of cisplatin and its clinical efficacy sparked significant interest in investigating coordination compounds for cancer treatment. In addition to cisplatin, other platinum complexes emerged, such as carboplatin and oxaliplatin. These compounds are widely used in the treatment of various types of cancer, including testicular, lung, ovarian, and bladder.

The mechanism of action of platinum drugs is quite complex, with the formation of inter- or intra-strand DNA adducts being one of the most studied and recognized pathways. The formation of these adducts results in the disruption of DNA replication and transcription processes, thereby promoting apoptosis. However, nuclear DNA is not the only target, there are other cellular targets that contribute to the effect of platinum drugs. Cisplatin, for instance, attacks mitochondria and triggers the production of reactive oxygen species, leading to the destruction of lysosomes and the subsequent release of lysosomal proteases that degrade the endoplasmic reticulum. These complexes can also form adducts with the functional groups in proteins, particularly with sulfur atoms in cysteine and methionine residues, altering protein function and contributing to the cell death.

Despite their proven efficacy, resistance to platinum drugs presents a major challenge in oncology. Cancer cells can develop resistance through various mechanisms, such as altering drug uptake/efflux, inactivating cisplatin via thiol-containing molecules, and repairing damaged DNA.

Understanding these resistance mechanisms is crucial for developing new therapeutic strategies. Throughout this monograph, various mechanisms of resistance are demonstrated, as well as ways of overcoming and optimising pharmacotherapeutic treatment.

Keywords: Platin; Resistance; Cancer; Treatment; Cisplatin; Anticancer activity.

ÍNDICE

Resumo	VII
Abstract	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE TABELAS.....	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS	XV
1. Introdução	1
2. Cancro	3
2.1. Perspetiva histórica, definição	3
2.2. Desenvolvimento do cancro.....	5
2.3. Distingão entre tumores benignos e malignos	8
2.4. Cancro na atualidade.....	11
3. Cisplatina: Exemplos do uso clínico em tratamento oncológico	13
3.1. Cancro testicular e da Próstata.....	13
3.2. Cancro do pulmão.....	15
3.3. Cancro dos ovários.....	15
4. Complexos de platina (II) aprovados para uso clínico.....	16
4.1. Fármacos de 2ª geração.....	17
4.1.1. Carboplatina.....	17
4.1.2. Nedaplatina	18
4.2. Fármacos de 3ª geração.....	19
4.2.1. Oxaliplatina.....	19
4.2.2. Heptaplatina	20
4.2.3. Lobaplatina	21
4.3. Farmacoterapia com complexos de Pt(II).....	22
4.3.1. Cisplatina	23
4.3.2. Carboplatina.....	26
4.3.3. Oxaliplatina.....	27
5. Cisplatina	28
5.1. Estrutura e atividade	28
5.2. Mecanismo de ação.....	31
5.2.1. Ligação da cisplatina ao ADN	31
5.2.2. Stress oxidativo.....	33
5.2.3. Interação de adutos cisplatina-ADN através da proteína HMG1.....	34

5.2.4.	Mecanismo de reparação do ADN	34
5.2.5.	Apoptose induzida por cisplatina.....	35
5.2.6.	Papel da proteína p53 na apoptose induzida por cisplatina	35
6.	Toxicidade da Cisplatina.....	37
6.1.	Nefrotoxicidade.....	37
6.2.	Neurotoxicidade.....	38
6.3.	Ototoxicidade.....	38
7.	Mecanismos de resistência.....	39
7.1.	Alterações no transporte celular da cisplatina	40
7.1.1.	Redução da intensidade de captação celular de cisplatina.....	40
7.1.2.	Aumento do efluxo de cisplatina	41
7.2.	Inativação intracelular da cisplatina.....	45
7.3.	Aumento da eficácia de mecanismos de reparação de danos no ADN.....	46
7.4.	Inibição de processos de apoptose	49
7.5.	Alterações nos processos de autofagia.....	51
7.6.	Alterações na mitocôndria das células cancerígenas	53
7.7.	Alterações no citoesqueleto das células cancerígenas	55
7.8.	Alterações no microambiente tumoral	57
8.	Estratégias para minimizar a toxicidade dos fármacos de platina	59
8.1.	Bioconjugação de substâncias-alvo	60
8.2.	Nanomateriais como transportadores de fármacos	62
8.2.1.	Nanoclusters de Au (GNCs) como transportadores de fármaco.....	62
8.2.2.	Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro como transportadores de fármaco	65
8.3.	Nanoclusters de platina (Pt NCs) como nova terapia	66
8.3.1.	Aplicação de Nanoclusters de platina (Pt NCs).....	67
8.4.	Lipoplatina	68
9.	Conclusão.....	71
10.	Referências bibliográficas.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Como o cancro se dissemina ¹¹	3
Figura 2- Fatores intrínsecos e extrínsecos que contribuem para os fenótipos nos tumores ¹³	4
Figura 3- Passos básicos desde a iniciação do tumor primário até à formação de metástases. Da esquerda para a direita, ilustração do processo de metástase, começando com o tecido normal e a geração do tumor primário. Etapas principais, como a formação do tumor primário, intravasação, células tumorais circulatórias (CTC), extravasação e colonização metastática ¹⁶	5
Figura 4- Vias dos genes cuidadores e controladores supressores de tumores ²¹	7
Figura 5- Diferenças entre tumor benigno e tumor maligno ²³	10
Figura 6- Visão global dos locais mais comuns de cancro por país em 2022, destacando os números absolutos de casos e a taxa de mortalidade para ambos os sexos ²⁷	11
Figura 7- Dez principais tipos de cancro para a estimativa de novos casos de cancro e mortes por sexo, Estados Unidos, 2022. As estimativas são arredondadas para os 10 mais próximos e excluem os cancros da pele de células basais e de células escamosas e o carcinoma in situ, exceto o da bexiga urinária ²⁸	12
Figura 8- Níveis relativos de mRNA de Kindlin-2 nas células de hiperplasia benigna da próstata (BPH-1) comparativamente às linhas celulares do cancro da próstata (LNCaP, PC-3 e DU-145) ³⁰	14
Figura 9- Estruturas químicas de fármacos de platina anticancerígenos clinicamente aprovados e comercializados ⁴⁰	16
Figura 10- Classificação de fármacos quimioterapêuticos ⁵⁰	22
Figura 11- Reação de substituição num complexo de platina(II) com amoníaco. O composto inicial, $[\text{PtCl}_4]^{2-}$, passa por uma reação com NH_3 , onde um átomo de cloro é substituído por uma molécula de amoníaco, formando $[\text{PtCl}_3(\text{NH}_3)]^-$. A segunda adição de NH_3 resulta na formação do complexo cis- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, também conhecido como cisplatina ⁷⁰	29
Figura 12- Reação de substituição num complexo de platina(II) com cloreto. O composto inicial, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, reage com cloreto (Cl^-), substituindo progressivamente os ligandos de amoníaco por cloro, formando $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_3\text{Cl}]^+$ como intermediário e, posteriormente, trans- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, também conhecido como transplatina ⁷⁰	30

Figura 13- Estruturas químicas dos isômeros de platina, (a) cisplatina e (b) transplatina ⁷¹ .	30
Figura 14- Mecanismo da principal via de ação da cisplatina incluindo os seguintes passos: i) absorção celular, ii) ativação, iii) formação dos adutos, iv) apoptose ⁸ .	32
Figura 15- Estrutura de ADN de cadeia dupla incluindo o aduto 1,2 intracadeia da cisplatina ⁷⁶ .	32
Figura 16- Esquema do mecanismo de ação da cisplatina no ADN celular e vias de resposta ⁴⁶ .	36
Figura 17- Representação do grupo com rácio CTR2/CTR1 positivo que teve uma sobrevivência global significativamente mais curta em comparação com o grupo negativo ¹⁰⁷ .	41
Figura 18- Mecanismos da ATP7A/7B na resistência aos fármacos de platina. (a) Os fármacos de platina ligam-se aos MBDs de ATP7A/7B para formar quelatos estáveis e não reativos ou causam sequestro vesicular. (b) ATP7A e ATP7B recebem fármacos de platina de ATOX1 e exportam fármacos das células. (c) Os níveis de Cu modulam a resistência à platina ¹⁰⁸ .	43
Figura 19- Resumo do mecanismo de sinergia entre a cisplatina e a tetratiomolibdato de amónio (TM) ¹¹⁶ .	44
Figura 20- O Painel B mostra a sobrevivência global de acordo com o tratamento em pacientes com tumores ERCC1-negativos. O Painel D mostra a sobrevivência global de acordo com o tratamento em pacientes com tumores ERCC1-positivos ¹²⁶ .	47
Figura 21- As sublinhagens de LNCaP foram expostas a cisplatina em diferentes concentrações (0,1, 1, 10 e 100 µM) por 48 horas, e as percentagens de células que passaram por apoptose foram registadas ¹³² .	50
Figura 22- Representação esquemática da regulação negativa de OGT que promove a formação do complexo SNAP-23-Stx4-VAMP8 e a secreção de exossomas, aumentando assim o transporte de cisplatina intracelular e reduzindo a concentração intracelular de cisplatina, melhorando assim a resistência das células de cancro do ovário à cisplatina ¹³⁶ .	52
Figura 23- Ilustração do envolvimento de p53, Phb1, Oma1 e Opa1 na regulação da fragmentação mitocondrial, apoptose e quimiossensibilidade em células ginecológicas ¹⁴⁰ .	54
Figura 24- Resumo do envolvimento de RhoA, RhoB e RhoC nos mecanismos de resistência à cisplatina descritos no texto. As vias/efetores proapoptóticos e de redução da quimiorresistência estão assinalados a vermelho, enquanto as vias/efetores antiapoptóticos e de aumento da quimiorresistência estão marcados a azul. Setas pretas indicam ligações bem estabelecidas,	

enquanto setas pontilhadas indicam conexões especulativas. Os asteriscos representam proteínas ou vias putativas que medeiam o efeito das proteínas Rho na quimiorresistência¹⁴². 56

Figura 25-Modelo proposto de CCL22 que confere resistência à cisplatina das células cancerígenas através da regulação da DGK α /NOX4, o CCL22 estimula a DGK α para produzir PA, que suprime a atividade da NADPH oxidase 4 (NOX4) e bloqueia o excesso de produção excessiva de EROs intratumoral induzida pela cisplatina. O CCL22 também ativa a DGK α /NF- κ B para regular positivamente a expressão de ABCG4, ABCA3 e ABCA5, para diminuir a concentração intratumoral de cisplatina¹⁴⁸. 58

Figura 26- Espectro de mecanismos de resistência à cisplatina³⁶. 59

Figura 27-Redução de pró-fármacos de Pt(IV) em espécies de Pt(II) terapeuticamente ativas¹⁵⁰. 61

Figura 28- Ilustração esquemática do pró-fármaco de platina(IV) com um sensor de apoptose induzido por agregação (AIE) incorporado para avaliação precoce in situ não invasiva das suas respostas terapêuticas¹⁵¹. 62

Figura 29- Ilustração esquematizada da nanoplataforma baseada em GNC para quimioterapia dirigida a tumores e imagiologia por fluorescência¹⁵⁵. 64

Figura 30- Estrutura do fármaco preparado por Brown et al., envolvendo a conjugação da platina a nanopartículas de ouro¹⁵⁷. 64

Figura 31- Processo de formação do conjugado CMDP-CMC-SPMNC⁴⁶. 66

Figura 32- Ilustração de um possível mecanismo pelo qual os nanoclusters FePt-CoS₂ em forma de casca de ovo matam células HeLa¹⁶¹. 67

Figura 33- Estrutura de uma nanopartícula de lipoplatina^{50,162,163}. 68

Figura 34- Ilustração do processo de extravasamento¹⁶³. 69

Figura 35- Mecanismo de ação através da ativação das vias de sinalização pela cisplatina e pela Lipoplatina¹⁶⁴. 70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Carboplatina ⁴⁶	18
Tabela 2- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Nedaplatina ⁴⁶	19
Tabela 3- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Oxaliplatina ⁴⁶	20
Tabela 4- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Heptaplatina ⁴⁶	21
Tabela 5- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Lobaplatina ⁴⁶	21
Tabela 6- Exemplos de diferentes combinações terapêuticas com cisplatina ^{46,59}	25
Tabela 7- Exemplos de diferentes combinações terapêuticas com carboplatina ⁴⁶	26
Tabela 8- Exemplos de diferentes combinações terapêuticas com Oxaliplatina ⁴⁶	27
Tabela 9- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Cisplatina ⁴⁶	28

LISTA DE ABREVIATURAS

5-FU	5-fluoracil
a.C	Antes de Cristo
ACS	American Chemical Society
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADNc	Ácido Desoxirribonucleico complementar
AIE	Emissão induzida por agregação
ARN	Ácido Ribonucleico
BER	Reparação por excisão de bases
CAFs	Fibroblastos associados ao carcinoma
CAS	Chemical Abstracts Service
CDDP	cis-diaminodicloroplatina(II)
CPNPC	Cancro do Pulmão de Não Pequenas Células
CPPC	Cancro do Pulmão de Pequenas Células
CTR1	Transportador de cobre 1
DAC	Desmetilante 2'-desoxi-5-azacitidina
DACH	(1R, 2R) – diaminociclohexano
dCTP	Desoxicitidina trifosfato
DGKα	Diacilglicerol quinase α
dNTP	Desoxirribonucleotidos
DPD	Dihidropirimidina desidrogenase
DPPG	Glicerofosfato de dipalmitoil

EPR	Efeito de permeação e retenção
EROs	Espécies reativas de oxigénio
ESCC	Carcinoma espinocelular do esófago
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
FTIs	Inibidores da farnesiltransferase
GNCs	Nanoclusters de Au
GSH	Glutathiona
GSTs	Glutathiona-S-transferases
ILV	Vesículas intraluminais
LNCaP	Linha celular do cancro da próstata
MMR	Reparação de incompatibilidade
MT	Metalotioneínas
MVB	Corpos multivesiculares
NER	Reparação por excisão de nucleótidos
NF-κB	Fator nuclear-κB
NOX 4	NADPH oxidase 4
NTP	Ribonucleotidos
OGT	O-GlcNAc transferase
Oma1	Metalopeptidase mitocondrial 1
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Ácido fosfatídico
PEG	Polietilenoglicol

Pt (II)	Platina (II)
Pt (IV)	Platina (IV)
Pt NCs	Nanoclusters de platina
SAR	Relação estrutura-atividade
SPIONs	Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro
TAMs	Macrófagos associados ao tumor
TEM	Microscopia eletrónica de transmissão
TFU	Tegafur-uracilo
TM	Tetratiomolibdato de amónio
TNFα	Fator de necrose tumoral α
UE	União Europeia
UV	Ultravioleta

1. Introdução

Desde da época de 1960, a descoberta de diversos compostos à base de platina tem vindo a suscitar interesse farmacoterapêutico. O primeiro complexo deste metal aprovado para uso clínico foi a cisplatina, que foi e é até aos dias de hoje fundamental para o tratamento de vários cancros que englobam o cancro dos ovários, pulmão, bexiga, testicular entre outros. No entanto, o seu uso contínuo demonstrou efeitos indesejáveis severos que limitavam desta forma a dose administrada e, posteriormente o desenvolvimento de resistência^{1,2}.

Nos últimos 30 anos, cerca de 23 complexos de platina foram submetidos a ensaios clínicos, dos quais apenas alguns foram aprovados para uso farmacológico. Entre os fármacos aprovados, a carboplatina e oxaliplatina obtiveram aprovação para comercialização internacional, enquanto que a nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina foram aprovados apenas em alguns países. Durante esse período, houve mais insucessos do que êxitos, com o desenvolvimento de 14 fármacos interrompidos nos ensaios clínicos³.

Relativamente aos fármacos de platina, estes complexos partilham um mecanismo de ação semelhante ao da cisplatina, que envolve a formação de adutos inter- ou intracadeias com o ADN nuclear sendo esta uma das principais vias de atuação reconhecida e estudada. Estes adutos vão interferir nos processos de replicação e transcrição do ADN, levando assim, à indução da apoptose. O complexo de cisplatina ataca seguidamente as mitocôndrias, produzindo espécies reativas de oxigénio, destruindo lisossomas e libertando por sua vez proteases lisossomais que vão degradar o retículo endoplasmático. Adicionalmente, este tipo de complexos têm a capacidade de alterar a função proteica e contribuir para a morte celular através da formação de adutos com grupos funcionais em proteínas, nomeadamente com átomos de enxofre que se encontram presentes nos resíduos de cisteína e metionina^{4,5}.

A resistência a medicamentos é um fenômeno amplamente reconhecido no contexto oncológico, sendo que os fármacos à base de platina, como a cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, nedaplatina e lobaplatina, exemplos notáveis de agentes anticancerígenos, mas cuja a sua utilização é limitada devido a este grande desafio. Apesar da eficácia inicial que estes complexos demonstram, as células tumorais tendem a desenvolver resistência, tanto intrínseca como adquirida, sendo que ao longo do tempo, compromete de forma significativa o tratamento farmacoterapêutico. Deste modo é necessário descobrir novas estratégias para ultrapassar este obstáculo⁶.

Existem vários mecanismos, pelos quais as células cancerígenas podem adquirir a resistência aos compostos à base de platina, tais como, a alteração na captação/efluxo de fármaco, a inativação da cisplatina através de moléculas contendo tiol e a capacidade de regeneração do ADN danificado⁷.

É essencial compreender estes mecanismos de resistência, para o desenvolvimento de novas abordagens farmacoterapêuticas que possam superar estas barreiras e melhorar os resultados obtidos no tratamento oncológico. Estas abordagens incluem a modificação da estrutura dos fármacos de platina e a criação de terapias combinadas que têm como foco múltiplos alvos para prevenir ou reverter a resistência⁸.

Deste modo, os objetivos desta monografia incluem uma análise detalhada dos fármacos de platina utilizados em tratamento oncológico, com foco nos seus mecanismos de atuação e resistência que limitam a sua eficácia clínica. A revisão bibliográfica é baseada em artigos e bases de dados entre os anos 2000 e 2024, provenientes de bases como PubMed, American Chemical Society, Web of Science, entre outros.

2. Cancro

2.1. Perspetiva histórica, definição

O termo cancro surgiu da palavra grega “karkinos”, utilizada pelo físico Hipócrates (460-370 A.C) para descrever carcinomas. Foi no antigo Egito, que foram descobertas algumas das primeiras evidências de cancro ósseo em seres humanos encontradas em múmias e manuscritos datados de 1600 a.C. O registo mais antigo documentado de cancro de mama data aproximadamente de 1500 A.C, onde se verificou a falta de tratamento direcionado, sendo apenas realizadas medidas paliativas ⁹.

O cancro advém de mutações em células normais, as quais lhes conferem a capacidade de evadir os mecanismos normais de controlo biológico e, desta forma, utilizar características celulares normais de modo anormal. Este processo inicia-se quando as células saudáveis de uma região específica do corpo perdem a capacidade de regulação do crescimento celular, resultando num crescimento descontrolado^{9,10}.

Existem diferentes tipos de cancro, em que as células cancerígenas dividem-se continuamente, sem controlo normal da proliferação celular, invadindo, perturbando e destruindo os tecidos locais. Alguns tipos de células cancerígenas podem migrar para outras partes do corpo através da circulação sanguínea ou dos vasos linfáticos, e nesse local iniciam novamente o seu crescimento. Este processo é conhecido como metástase (Figura 1) ¹⁰.



Figura 1- Como o cancro se dissemina¹¹.

O risco de desenvolver cancro não depende apenas da idade e do genótipo do hospedeiro, mas também de fatores que influenciam a potencialidade do seu aparecimento. Como tal, para minimizar a hipótese do surgimento do cancro, podem ser feitas alterações no estilo de vida do indivíduo, tais como, praticar exercício físico, evitar a ingestão excessiva de calorias/nutrientes, evitar o tabagismo e o álcool, evitar a exposição à radiação ultravioleta (UV), entre outros¹².

Estes fatores genéticos e ambientais, induzem pressões seletivas que impulsionam a evolução clonal, isto é, criam ou eliminam vulnerabilidades metabólicas facilitando assim a progressão do cancro (Figura 2)¹³.

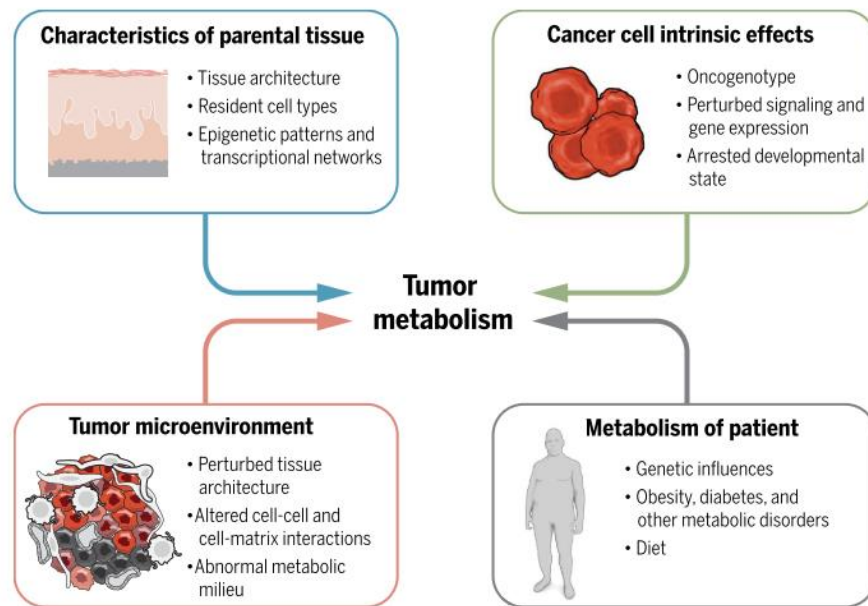


Figura 2- Fatores intrínsecos e extrínsecos que contribuem para os fenótipos nos tumores¹³.

Para que seja possível realizar o diagnóstico do cancro, o tumor deve atingir uma dimensão de aproximadamente 1cm ou consistir em cerca de 1 milhão de células. Nesta fase, o tumor pode ser classificado de diversas formas, tais como, massa, nódulo, caroço, lesão, crescimento ou tumor. Porém existem algumas exceções, sobretudo em casos de cancro do sangue como a leucemia ou da medula óssea, onde não é comum se formar massa tecidual¹⁴.

As células cancerígenas prosseguem na sua proliferação a menos que ocorra uma das quatro intervenções: a remoção cirúrgica do tumor, administração de terapias anticancerígenas, aplicação de radiação terapêutica, regressão espontânea das células neoplásicas. No entanto, este último cenário, embora raro, pode ocorrer em alguns casos de melanoma ou carcinoma renal¹⁴.

2.2. Desenvolvimento do cancro

A metastização é considerada o evento mais letal na formação de tumores, sendo vista como o fim do processo. Anteriormente, as metástases ocorriam frequentemente numa fase tardia, no entanto, investigações recentes revelaram que podem surgir precocemente durante o desenvolvimento do tumor¹⁵.

Estes fatores, indicam que a metastização pode ocorrer tanto em fases iniciais, como em fases tardias, contudo, estes processos patogénicos são distintos. As células que desencadeiam a metastização precoce são caracterizadas pela presença exclusiva de mutações troncais, enquanto que as células metastáticas que emergem em estágios tardios exibem mutações subclonais¹⁵.

Para uma compreensão mais aprofundada do desenvolvimento do cancro, é essencial analisar as seguintes etapas do processo de metastização: o estabelecimento do tumor primário com crescimento invasivo, que inclui a intravasação; a circulação intravascular das células tumorais; e a extravasação dessas células, resultando no crescimento metastático. Estas etapas são fundamentais para elucidar como o cancro se dissemina e evolui ao longo do tempo¹⁶.

O tumor primário surge da multiplicação descontrolada de células cancerígenas num determinado órgão ou tecido, devido a uma resposta inadequada aos sinais intracelulares que normalmente são responsáveis pela divisão e crescimento celular. Esta proliferação está associada a mutações que ativam genes envolvidos na estimulação da divisão celular, os proto-oncogenes, ou que desativam genes supressores do tumor que estão envolvidos no controlo e reparação de mutações de ADN, bem como na indução de morte celular programada com mutações irreparáveis (Figura 3)^{10,16}.

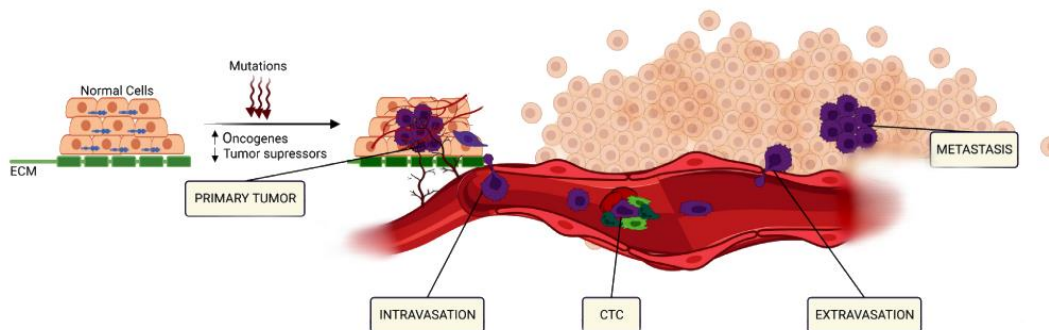


Figura 3- Passos básicos desde a iniciação do tumor primário até à formação de metástases. Da esquerda para a direita, ilustração do processo de metastase, começando com o tecido normal e a geração do tumor primário. Etapas principais, como a formação do tumor primário, intravasação, células tumorais circulatórias (CTC), extravasação e colonização metastática¹⁶.

Os marcadores do cancro, conforme abordados por Hanahan et al., sintetizam vários traços que permitem a sobrevivência e o crescimento das células cancerígenas face a condições adversas¹⁶.

A carcinogénese refere-se ao processo pelo qual células normais adquirem características cancerígenas. Este processo envolve várias classes de genes, incluindo oncogenes, genes supressores de tumores e genes de estabilidade genética. É relevante referir que, ao contrário de doenças como a fibrose cística ou a distrofia muscular, onde apenas uma única mutação num gene pode provocar a doença, no cancro não existe um único defeito genético que cause o seu desenvolvimento¹⁷.

Os proto-oncogenes normalmente, desempenham um papel crucial na regulação do ciclo celular quando ativados adequadamente. No entanto, quando um proto-oncogene sofre uma alteração genética ou uma amplificação excessiva da sua cópia, pode ser transformado num oncogene. O oncogene quando ativado, resulta na ativação contínua ou independente de sinais de crescimento e por sua vez, no aumento descontrolado da divisão celular. Os oncogenes podem ser ativados nas células de várias formas, através de mutações genéticas, mudanças epigenéticas, rearranjos cromossómicos e duplicação de genes^{17,18}.

Relativamente aos genes supressores de tumores, são alvos de alterações genéticas de forma oposta, isto é, as mutações reduzem atividade do produto genético. Estas inativações surgem de mutações em pontos críticos, os quais são essenciais para atividade do gene, tais como, deleções ou inserções, silenciamento epigenético e mutações que resultam na produção de uma proteína truncada^{17,18}.

A última classe de genes associados com o cancro são chamados de genes de estabilidade que são divididos em duas categorias, os controladores e os cuidadores. Os genes controladores, têm como função o controlo direto do crescimento celular, inibindo a proliferação, induzindo apoptose e, posteriormente promovendo a diferenciação terminal. Este tipo de genes, pode ainda facilitar a reparação de danos no ADN retardando o ciclo celular, aumentando desta forma a sobrevivência celular^{17,19,20}.

Por outro lado, os genes cuidadores supressores de tumores têm relevância na manutenção da estabilidade genômica através do controlo de mutações. A inativação dos genes cuidadores pode potenciar o processo de carcinogénese. Esta classe abrange os genes de reparação de incompatibilidade (MMR), reparação por excisão de nucleótidos (NER) e reparação por excisão de bases (BER), que corrigem erros ocorridos durante a replicação do ADN ou induzidos pela exposição a agentes mutagénicos^{19,20}.

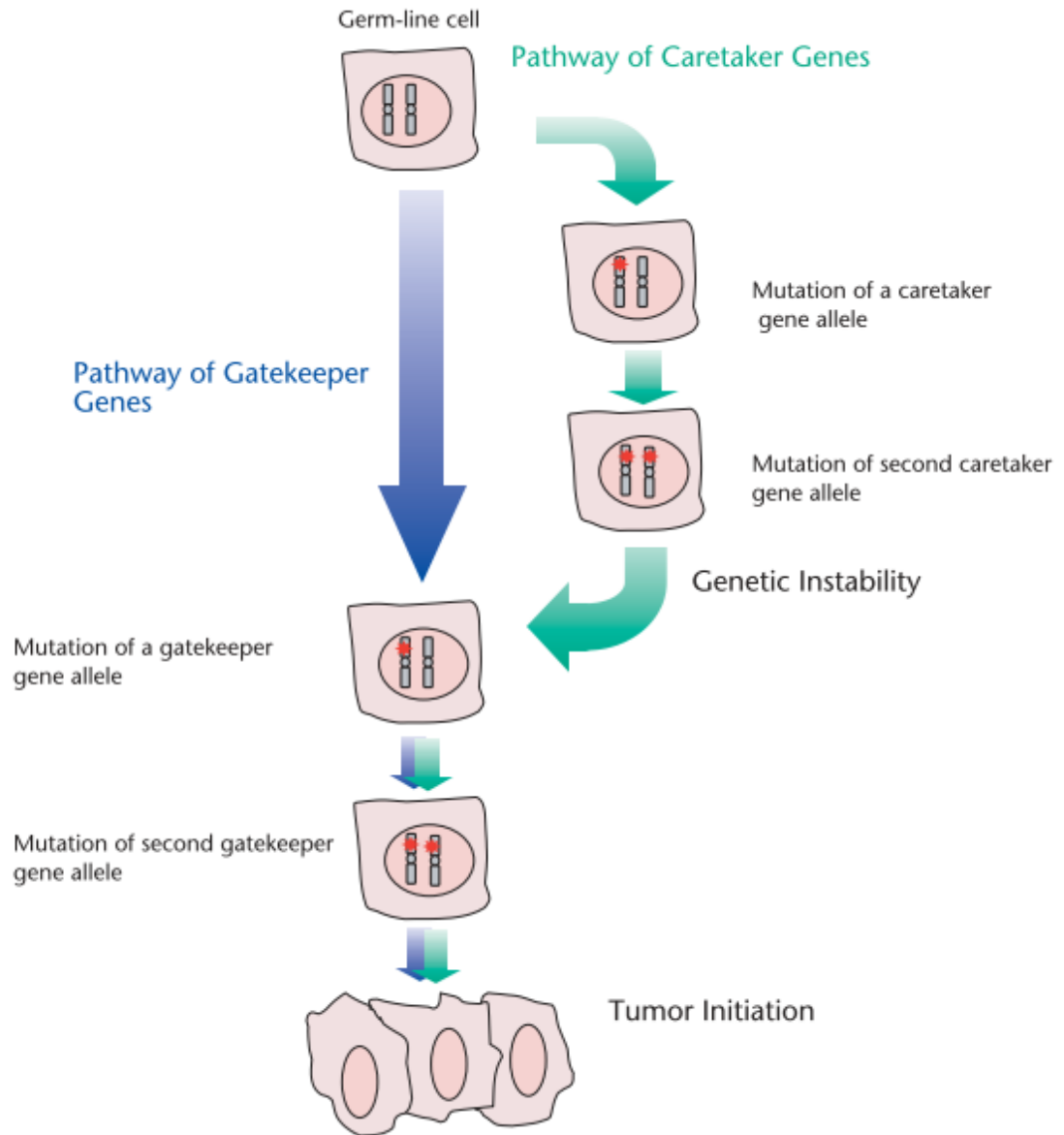


Figura 4- Vias dos genes cuidadores e controladores supressores de tumores ²¹.

Segundo o cientista Knudson, que propôs a teoria de “two-hit” em que refere que na via dos genes controladores, os indivíduos que herdaram uma cópia mutada do gene apenas necessitam de uma mutação somática adicional no outro alelo para ativação do processo neoplásico (Figura 4). Assim, como a probabilidade de adquirir uma única alteração somática é exponencialmente superior do que obter duas mutações, então o risco para os indivíduos que já possuem esta alteração é 103 vezes maior comparativamente com a população em geral²¹.

Os genes cuidadores encontram-se frequentemente mutados em linhas germinativas, porém em tumores esporádicos estas mutações são pouco comuns. Portanto, as alterações nos genes cuidadores não são essenciais nem suficientes para o surgimento de um tumor, posto isto, independentemente da sua recuperação funcional, caso o gene controlador já esteja mutado não irá impedir o crescimento neoplásico. De modo geral, um gene controlador que sofra alteração irá potencializar o processo de iniciação tumoral, enquanto que uma mutação no gene cuidador vai acelerar a progressão do tumor²¹.

2.3. Distinção entre tumores benignos e malignos

A classificação dos tumores depende da sua aparência e comportamento biológico, podendo ser benigno ou maligno consoante as suas capacidades comportamentais biológicas que estão associadas a mudanças morfológicas (Figura 5)¹⁰.

Os tumores benignos são caracterizados pela capacidade de permanecer no local de origem, sem invadir outras regiões do corpo. Ao contrário dos tumores malignos, estes tumores não se disseminam para outras estruturas adjacentes ou para locais distantes, prosseguem o seu crescimento lentamente e mantendo fronteiras distintas²².

Geralmente, os tumores benignos não representam uma ameaça significativa à saúde. No entanto, estes tumores podem atingir tamanhos consideráveis, resultando assim na compressão de estruturas próximas e provocando desconforto ou complicações médicas. Estas neoplasias não cancerígenas, após serem removidas cirurgicamente, a sua probabilidade de reaparecimento é pouco provável²³.

Existem vários tipos de tumores benignos, tais como, adenomas, fibromas, hemangiomas e lipomas. Os adenomas têm origem no tecido epitelial, onde forma uma camada fina de células que reveste as glândulas e os órgãos, sendo o cólon frequentemente afetado. Os fibromas desenvolvem-se no tecido fibroso, sendo o útero o órgão maioritariamente prejudicado. Os hemangiomas são caracterizados por um crescimento anormal de vasos sanguíneos adicionais, sendo bastante comum no fígado e na pele. Os lipomas surgem com mais frequência em pessoas entre os 40-60 anos, e encontram-se no tecido adiposo em qualquer parte do corpo, geralmente ao redor do pescoço, ombros, axilas e tronco²³.

Contrariamente às neoplasias benignas, os tumores malignos apresentam um potencial cancerígeno, isto é, têm a capacidade de se disseminarem e atingir outros órgãos. Devido à sua propensão para se disseminarem, estes tumores requerem tratamento imediato para conter o seu avanço^{22,23}.

O tratamento das neoplasias malignas está dependente do estadió em que o cancro se encontra, ou seja, caso esteja numa fase precoce o mais indicado seria cirurgia seguida de quimioterapia ou radioterapia. Por outro lado, se o tumor for encontrado numa fase tardia, o tratamento provavelmente será sistémico recorrendo-se à quimioterapia/imunoterapia ou cuidados paliativos²².

Há uma variedade de tumores malignos distintos, entre eles, carcinomas, sarcomas e blastomas. Os carcinomas originam-se a partir das células epiteliais e representam o tipo mais prevalente de neoplasia, constituindo entre 80-90% dos diagnósticos de cancro. Um exemplo de carcinomas, são os adenocarcinomas provenientes de células epiteliais que secretam fluídos ou muco, sendo que maioritariamente os cancros de mama, cólon e próstata representam este tipo de tumor. Outros exemplos de carcinomas são, o carcinoma basocelular que surge na camada basal da epiderme, o carcinoma de células escamosas que se forma na superfície externa na pele e o carcinoma de células de transição que se desenvolve nos revestimentos da bexiga, ureteres e parte dos rins^{23,24}.

Os sarcomas têm origem em células dos tecidos conjuntivos, como osso, músculos, gordura, vasos linfáticos, vasos sanguíneos e tecido fibroso. Os tipos mais comuns de sarcomas de tecidos moles são o leiomiossarcoma, o sarcoma de Kaposi, o histiocitoma fibroso maligno, o lipossarcoma, o dermatofibrossarcoma protuberante e o osteossarcoma, sendo este último o mais frequente²⁴.

Os blastomas surgem de células precursoras designadas de blastos e cada tipo de blastoma é designado de acordo com a sua localização no corpo. Exemplos deste tipo de tumores são o nefroblastoma encontrado no rim e o retinoblastoma localizado no olho, sendo que estas neoplasias são mais frequentes em crianças²⁵.

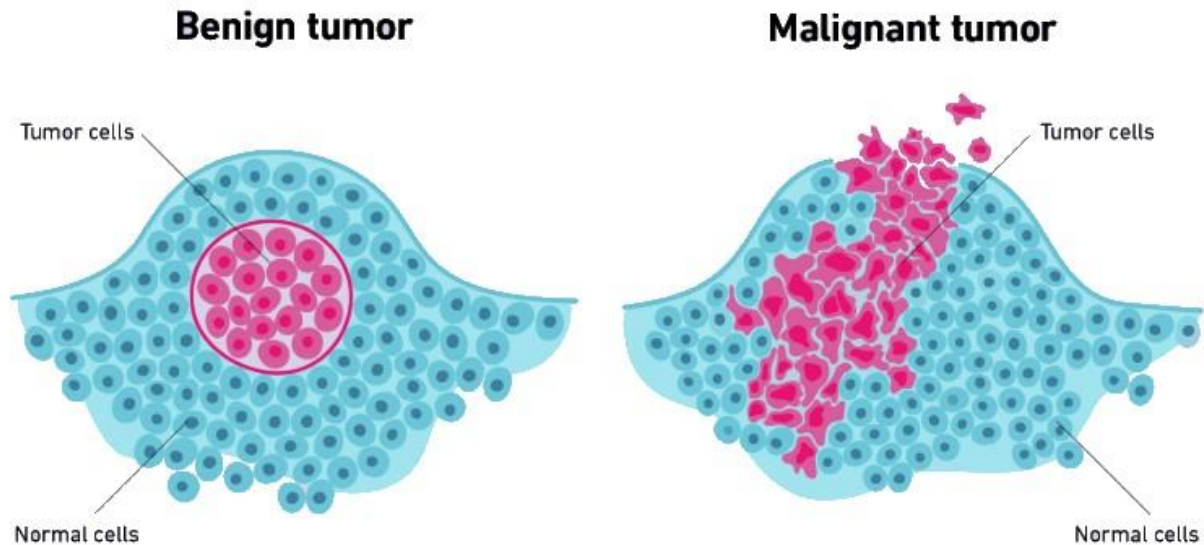


Figura 5-Diferenças entre tumor benigno e tumor maligno²³.

Estudos relativos a tumores malignos, sugerem que a acumulação progressiva de mutações ao longo do tempo desempenha um papel preponderante na dinâmica do cancro que influencia a progressão do tumor, assim como a sua metastização. Adicionalmente, a progressão de adenoma para o carcinoma também reforça a hipótese de que a acumulação de mutações determina um papel significativo do trajeto do tumor benigno, havendo a possibilidade da sua progressão ser maligna²⁶.

2.4. Cancro na atualidade

O cancro é a 2ª principal causa de morte mundial, sendo que em 2020 registaram-se aproximadamente 10 milhões de óbitos segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (Figura 6). Inúmeras pessoas conseguem prolongar o seu tempo de vida devido à identificação precoce e do tratamento²⁷.

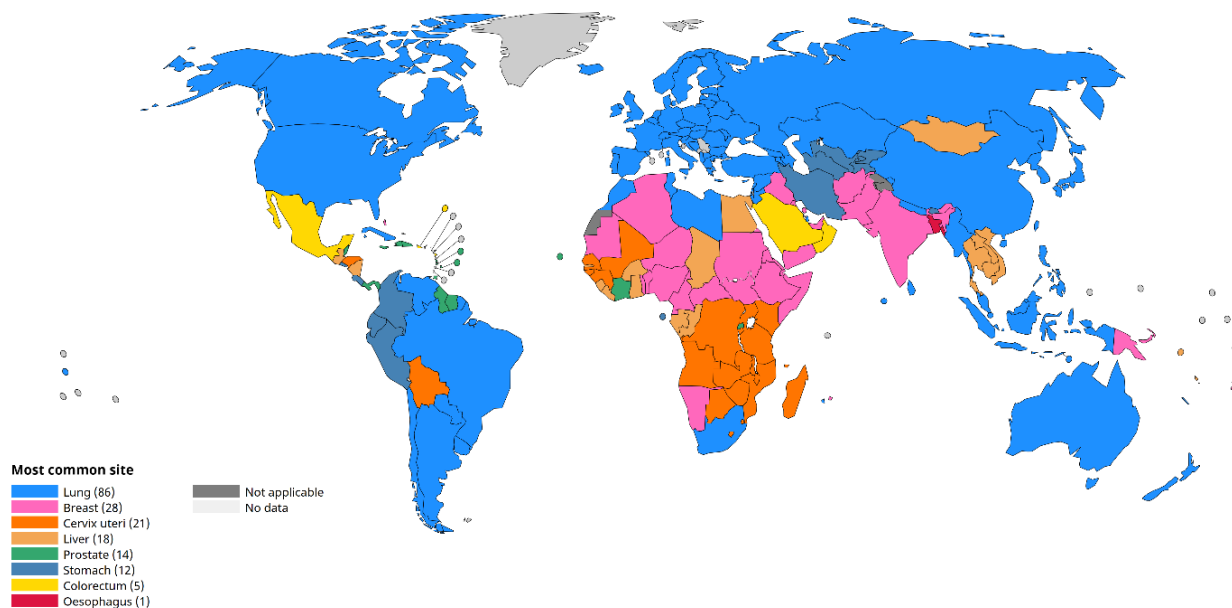
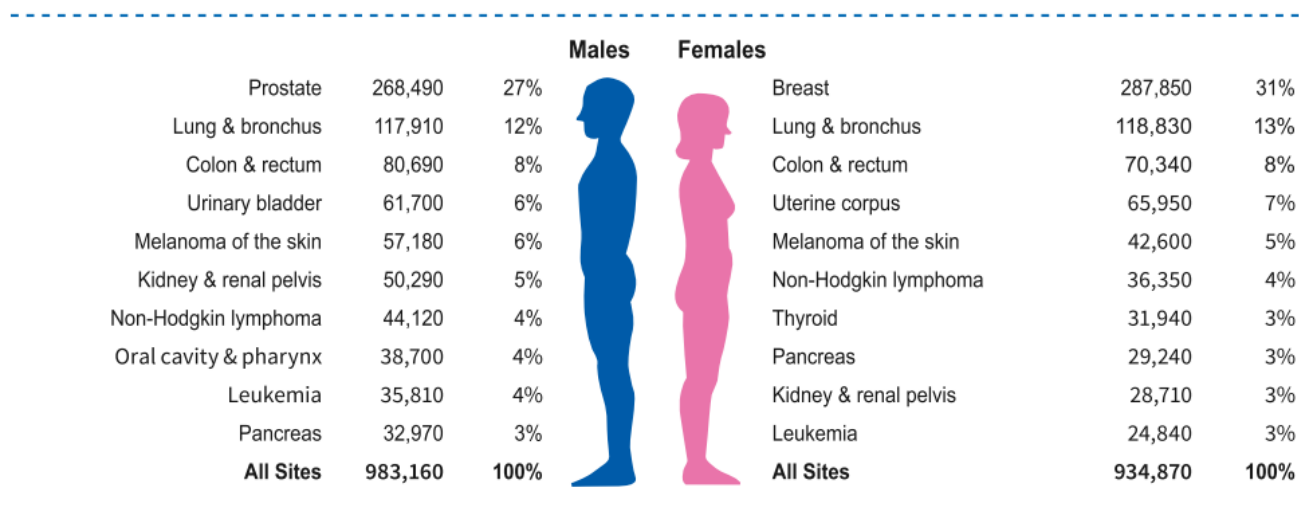


Figura 6- Visão global dos locais mais comuns de cancro por país em 2022, destacando os números absolutos de casos e a taxa de mortalidade para ambos os sexos²⁷.

De acordo com a OMS, os tipos de cancro mais comuns são o da mama, pulmão, cólon e reto, e próstata. Estes tipos de cancro afetam órgãos vitais do corpo humano, tornando-os alvos de investigação científica de modo a compreender os seus mecanismos de desenvolvimento e identificar estratégias eficazes de prevenção e tratamento²⁷.

Em 2022, a American Chemical Society (ACS) previu que haveria aproximadamente 1 918 030 novos casos de cancro e 609 360 de óbitos por cancro nos Estados Unidos da América (EUA). Destes, estimaram que ocorreriam cerca de 350 mortes por dia devido a cancro pulmonar, continuando a ser a principal causa de mortalidade no âmbito oncológico(Figura 7) ²⁸.

Estimated New Cases



Estimated Deaths

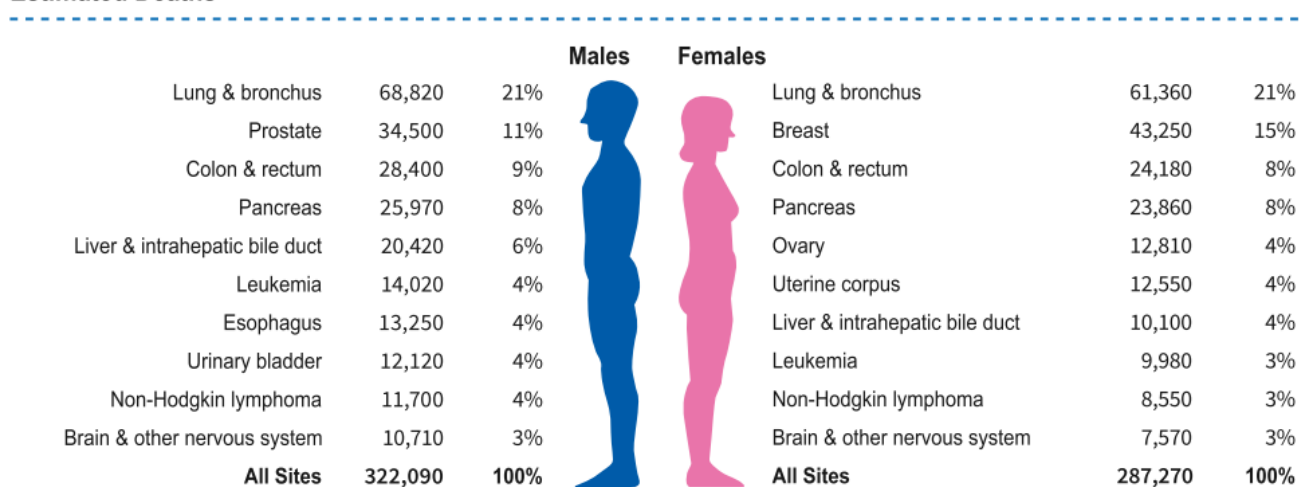


Figura 7-Dez principais tipos de cancro para a estimativa de novos casos de cancro e mortes por sexo, Estados Unidos, 2022. As estimativas são arredondadas para os 10 mais próximos e excluem os cancros da pele de células basais e de células escamosas e o carcinoma *in situ*, exceto o da bexiga urinária²⁸.

3. Cisplatina: Exemplos do uso clínico em tratamento oncológico

3.1. Cancro testicular e da Próstata

Há dois principais tipos de cancro testicular, o seminoma e o não-seminoma. Ao contrário dos não-seminomas, os seminomas podem surgir em qualquer idade e tendem a crescer e alastrar mais lentamente, sendo o uso de cisplatina bastante eficaz apresentando uma taxa de cura de cerca de 85% em casos avançados após três ou quatro ciclos. Por outro lado, a taxa de cura com a carboplatina, quando utilizada como tratamento única, é reduzida para cerca de 59%²⁹.

Em comparação, os não-seminomas são normalmente observados em indivíduos masculinos entre o final da adolescência e o início dos 30 anos, e incluem cerca de quatro subtipos, carcinoma embrionário, carcinoma do saco endodérmico, coriocarcinoma e teratoma. O tratamento combinado com bleomicina, etoposido e cisplatina é mais eficiente para doentes com teratoma, alcançando uma taxa de cura de 90%. A aprovação do uso da cisplatina para o tratamento do cancro testicular e metastático do ovário foi dada em 1978 pela FDA²⁹.

A resistência aos medicamentos anticancerígenos é frequentemente observada na terapia do cancro da próstata, sendo este um dos cancros mais comuns nos homens. Embora o motivo exato da elevada sensibilidade do cancro à cisplatina ainda seja desconhecida, têm vindo a ser identificados diversos mecanismos para justificar este fenómeno. Segundo Gong et al., verificou-se que a proteína Kindlin-2 estava superexpressa em linhas celulares de cancro da próstata independentes de androgénios (PC-3 e DU-145), desempenhando um papel fundamental na manutenção da sobrevivência das células cancerígenas, bem como na sensibilidade à CDDP. Contrariamente ao que se observava nas linhas celulares PC-3 e DU-145, nas linhas sensíveis a androgénios (LNCaP) a expressão da Kindlin-2 era reduzida. A proteína Kindlin-2 foi superexpressa em células LNCaP, conferindo uma maior resistência à cisplatina, enquanto que nas células PC-3, verificou-se uma redução da expressão de Kindlin-2 aumentando a sensibilidade ao fármaco (Figura 8)³⁰.

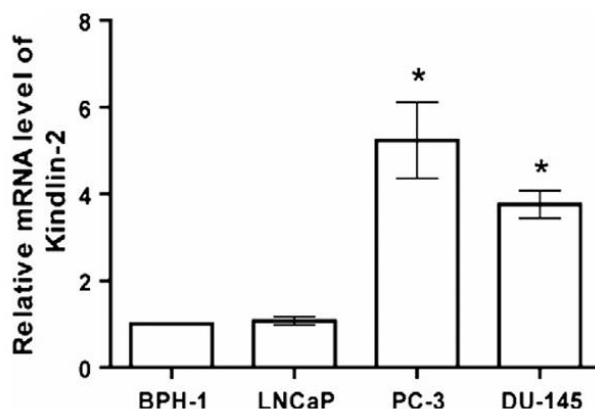


Figura 8-Níveis relativos de mRNA de Kindlin-2 nas células de hiperplasia benigna da próstata (BPH-1) comparativamente às linhas celulares do cancro da próstata (LNCaP, PC-3 e DU-145)³⁰.

Estudos realizados por Usanova et al., demonstraram que as ligações intra e intercadeias induzidas pela cisplatina em tumores testiculares não são reparadas devido à baixa expressão do complexo ERCC1-XPF, sendo este responsável pela reparação do ADN e, quando sobreexpresso, diminui a sensibilidade à cisplatina³¹.

De acordo com Koster et al., a presença do gene supressor tumoral TP53 e os baixos níveis de p53 associada com MDM2, um regulador de feedback negativo da proteína p53, contribui para a sensibilidade da cisplatina. Para além disso, os elevados níveis de Oct4, um regulador de pluripotência, resulta num aumento dos níveis de miR-17/106b e por sua vez da proteína pró-apoptótica Noxa, causando sensibilidade ao complexo cis-diaminodicloroplatina (II) (CDDP). É de notar que miR-17/106b, pertencem a uma família de microARNs sendo o miR-106b responsável pelo controlo de diferenciação, manutenção das células estaminais embrionárias e regulação da expressão da proteína p21 através da inibição da tradução da p21 pela sua ligação à região 3'-UTR do gene. Os níveis baixos de p21 correlacionam-se de forma semelhante com a elevada expressão de Oct4 e de miRs (mir-17/106b) no âmbito da sensibilidade das células cancerígenas ao fármaco cisplatina³².

Awuah et al., provaram que a proteína HMGB4 (High-mobility group box protein 4), que é um repressor de transcrição expresso preferencialmente em testículos ligando-se ao ADN danificado pela cisplatina, bloqueia de forma única a reparação por excisão de adutos de cisplatina-ADN, como as ligações 1,2-intracadeias cruzadas, aumentando a sensibilidade dos tumores de células germinativas testiculares à cisplatina³³.

3.2. Cancro do pulmão

Entre os tumores malignos fatais, o cancro do pulmão é um dos mais frequentes, podendo-se dividir em dois tipos, o de pequenas células e de não pequenas células. A diferença entre eles, reside na forma como se desenvolvem e disseminam. Devido ao seu rápido crescimento e agressividade, o cancro do pulmão de pequenas células geralmente já se encontra disseminado quando é diagnosticado logo é mais dificilmente tratado, sendo a quimioterapia o tratamento mais eficaz nestas situações³⁴.

Na quimioterapia, são principalmente utilizados dois fármacos de platina, a carboplatina e a cisplatina, sendo a última a escolha preferencial visto que possui uma intensa atividade antitumoral, embora cause efeitos indesejáveis como náuseas, vômitos e toxicidade renal. Nos estadios I e II do cancro do pulmão de células não pequenas, é normalmente realizada a cirurgia para remoção tumoral, seguida por quimioterapia adjuvante. No caso dos estadios III e IV, a cirurgia não é possível, sendo a quimioterapia combinada com radioterapia o método mais eficaz³⁵.

3.3. Cancro dos ovários

O cancro dos ovários é considerado o 3º mais comum entre os cancros que afetam as mulheres, tendo sido estimado em 2020 cerca de 314.000 mulheres diagnosticadas com a doença. Apesar de não se conhecer com certeza as causas para o aparecimento do cancro dos ovários, acredita-se que possa estar associado a fatores hereditários, em particular pessoas com antecedentes de cancro da mama ou cólon. A taxa de sobrevivência é cerca de 70% caso a doença seja identificada numa fase inicial, porém apenas 20% dos casos são diagnosticados precocemente visto que não há sintomas específicos nesta fase^{36,37}.

Atualmente, o tratamento commumente utilizado consiste na remoção cirúrgica da massa tumoral, seguida de quimioterapia ou radioterapia para destruir eventuais células cancerígenas que residam após a cirurgia. Adicionalmente, são também utilizadas no tratamento terapias direcionadas como, a terapia hormonal e imunoterapia³⁸.

Embora a cisplatina apresente muitos efeitos indesejáveis continua a ser um agente farmacoterapêutico bastante utilizado juntamente com paclitaxel ou docetaxel, pertencentes à família dos taxanos. Um dos principais inconvenientes desta terapia é a alta probabilidade de recidiva do cancro após um tratamento bem sucedido, havendo um aumento da resistência ao complexo³⁷.

4. Complexos de platina (II) aprovados para uso clínico

A cisplatina é considerada um medicamento anticancerígeno de 1ª geração à base de platina. Os fármacos de platina de 2ª e 3ª geração são semelhantes à cisplatina, no entanto diferem nos grupos abandonantes bem como nos grupos de amina (Figura 9)³⁹.

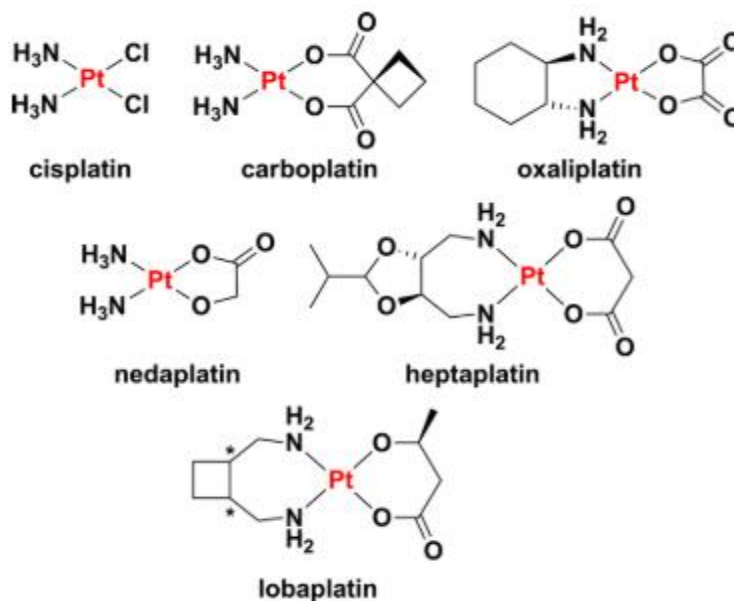


Figura 9- Estruturas químicas de fármacos de platina anticancerígenos clinicamente aprovados e comercializados⁴⁰.

Os fármacos de 2ª geração são formados apenas pela variação dos grupos abandonantes ou dos grupos de amina, enquanto que os complexos de 3ª geração apresentam diferenças tanto nos grupos abandonantes quanto nos grupos de amina. A carboplatina e a nedaplatina são exemplos significativos de fármacos de platina de 2ª geração. Por outro lado, a oxaliplatina, lobaplatina e heptaplatina são exemplos de complexos de 3ª geração⁴¹.

Apesar da cisplatina ser um fármaco amplamente utilizado em quimioterapia mundialmente, os seus efeitos indesejáveis e a sua resistência representam uma grande controvérsia. Estes problemas impulsionam novos desenvolvimentos, nomeadamente de vários novos compostos análogos da cisplatina, sendo estes projetados com base na relação estrutura-atividade (SAR), porém apenas a carboplatina e a oxaliplatina foram aprovadas e alguns outros fármacos progrediram para ensaios clínicos⁴².

4.1. Fármacos de 2^a geração

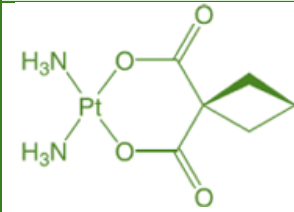
4.1.1. Carboplatina

A carboplatina, foi aprovada em 1989 a nível mundial, sendo atualmente utilizada em tratamento de vários tipos de cancro nomeadamente o dos ovários. Este complexo é vantajoso comparativamente à CDDP, uma vez que possui um perfil tóxico baixo e menos efeitos indesejáveis, o que permite desta forma a sua administração em doses mais elevadas e por sua vez melhores efeitos terapêuticos (Tabela 1)³.

O menor efeito citotóxico da carboplatina está associado à substituição dos ligandos cloreto lábeis da cisplatina por 1,2-ciclobutanodicarboxilato, que é um mau grupo abandonante, o que se traduz numa reação mais lenta com a glutathione e as metaloteoneínas. No entanto, é administrada por via intravenosa e apresenta atividade no mesmo tipo de tumores que a cisplatina. Este fármaco apresenta resistência cruzada com a cisplatina (ou seja as células tumorais apresentam resistência à carboplatina ganha com administração de cisplatina)^{3,43,44}.

Comparativamente ao complexo de 1^a geração, a carboplatina apresenta uma menor eficácia no tratamento de tumores de células germinativas, cancro da cabeça e pescoço, e carcinomas da bexiga e esôfago. No entanto, ambos os complexos demonstraram eficácia semelhante quando utilizados no tratamento do cancro dos ovários, CPPC e CPNPC⁴⁵.

Tabela 1-Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Carboplatina⁴⁶.

Complexo	Estrutura Química	Tipos de cancro	Efeitos indesejáveis	Ano descoberta
Carboplatina		<ul style="list-style-type: none"> • Cervical • Mama • Cerebral • Cabeça e pescoço • Testicular 	<ul style="list-style-type: none"> • Mielosupressão • Nefrotoxicidade • Trombocitopenia 	1989

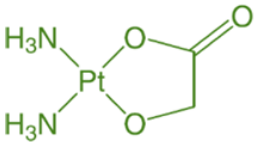
4.1.2. Nedaplatina

A diamina [hidroxiacetato(2-)-O,Ó]platina(II), também conhecida como nedaplatina, é um fármaco de platina de 2ª geração da platina que apresenta uma atividade anticancerígena superior à da carboplatina e à da cisplatina. De acordo com estudos clínicos japoneses, a nedaplatina demonstrou um atividade antitumoral superior à cisplatina no tratamento de câncros da cabeça e pescoço, pulmonar e cervical, para além de possuir uma menor toxicidade a nível renal ou gastrointestinal (GI)⁴⁷. Esta eficácia, deve-se ao facto de possuir na sua estrutura um glicolato no grupo abandonante invés do ciclobutano-1,1-dicarboxilato, o que lhe confere uma solubilidade em meio aquoso 10 vezes superior comparativamente ao complexo de 1ª geração (CDDP), resultando numa menor nefrotoxicidade relativamente aos restantes complexos^{48,49}.

Este complexo obteve aprovação regulatória em 1995 apenas no Japão, sendo este utilizado no tratamento de câncros da cabeça, pescoço, pulmões, fígado e esófago⁵⁰.

O complexo de 2ª geração apresenta menor nefrotoxicidade, neurotoxicidade e toxicidade GI comparativamente com a cisplatina. Contudo, pode induzir trombocitopenia e existe um potencial risco de provocar nefrotoxicidade na dose terapêutica caso não haja uma hidratação adequada, sendo por este motivo aconselhável realizá-la previamente e após o tratamento (Tabela 2)⁵¹.

Tabela 2-Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Nedaplatina⁴⁶.

Complexo	Estrutura Química	Tipos de cancro	Efeitos indesejáveis	Ano descoberta
Nedaplatina		<ul style="list-style-type: none"> • Neuroblastoma • Estômago • Pâncreas • Cabeça e pescoço • Testicular • Ovários • Cervical • Mama • Pulmão 	<ul style="list-style-type: none"> • Mielosupressão • Anemia • Trombocitopenia 	1995

4.2. Fármacos de 3^a geração

4.2.1. Oxaliplatina

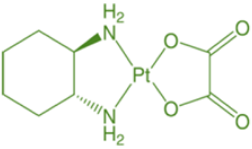
No que diz respeito à oxaliplatina, esta apresenta a particularidade de conseguir ultrapassar a resistência da cisplatina sendo bastante utilizada no tratamento do cancro do cólon. O complexo de 3^a geração foi aprovado em 1996 em países europeus, incluindo França e Inglaterra⁵².

A atividade da oxaliplatina contra o cancro colorretal é associada à sua capacidade de atuar como substrato para os transportadores de cationes orgânicos humanos, que se encontram sobre-expressos em pacientes com este tipo de cancro. Atualmente, a oxaliplatina continua a ser o único agente terapêutico à base de platina que demonstrou eficácia contra o cancro colorretal⁵²⁻⁵⁴.

A oxaliplatina distingue-se da cisplatina por possuir dicarboxilatos como grupos abandonantes em vez de cloretos. Este tipo de ligandos reduzem significativamente a reatividade do complexo de 3^a geração, limitando assim os efeitos indesejáveis associados à neuropatia sensorial periférica (Tabela 3)¹.

Este complexo apresenta ainda um grupo quelante designado de trans-(1R,2R)-diaminociclohexano (DACH) em vez de amoníaco. Este ligando contribui para o aumento da lipofilicidade resultando assim numa maior penetração do fármaco através da membrana celular. É de notar ainda que a maior absorção celular e diferente conformação de ADN são responsáveis por ultrapassar a resistência à cisplatina, uma vez que ocorre a formação de predominantemente de adutos intracadeiras GpG, sendo que o ligando hidrofóbico DACH direciona-se para ranhura principal o que impede a ligação a proteínas reparadoras do ADN ⁵⁵.

Tabela 3-Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Oxaliplatina⁴⁶.

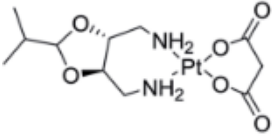
Complexo	Estrutura Química	Tipos de cancro	Efeitos indesejáveis	Ano descoberta
Oxaliplatina		<ul style="list-style-type: none"> • Estômago • Pâncreas • Colorretal 	<ul style="list-style-type: none"> • Nefrotoxicidade • Neurotoxicidade • Distúrbios GI • Trombocitopenia 	2002

4.2.2. Heptaplatina

Em 1999, foi aprovada na Coreia do Sul para o tratamento do cancro gástrico o complexo de Pt(II) de 3^a geração, a heptaplatina, devido ao facto de apresentar malonato como grupo abandonante e o 2-(1-metiletil)1,3-dioxolana-4,5dimetanamina como grupo quelante não residual. Este complexo apresenta também a particularidade de possuir uma alta solubilidade em água ⁴⁹.

Foi realizado um estudo para investigar os mecanismos moleculares da heptaplatina em linhas celulares de cancro que são resistentes à cisplatina, focando-se no papel da metalotioneína. Estes ensaios observaram que a expressão de genes antioxidantes e de transporte contribuem para a manutenção da resistência à cisplatina em células de cancro gástrico. Os resultados demonstraram que, embora a metalotioneína desempenhe um papel importante na resistência à cisplatina e carboplatina em células do cancro gástrico, a sua influência na resistência ao complexo de 3^a geração é menor. Isso sugere que a heptaplatina possa ser uma alternativa eficaz em casos onde a resistência à cisplatina seja associada aos níveis elevados de metalotioneína (Tabela 4) ⁵⁶.

Tabela 4- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Heptaplatina⁴⁶.

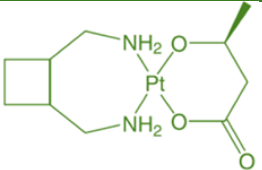
Complexo	Estrutura Química	Tipos de cancro	Efeitos indesejáveis	Ano descoberta
Heptaplatina		<ul style="list-style-type: none"> Gástrico avançado 	<ul style="list-style-type: none"> Nefrotoxicidade 	1999

4.2.3. Lobaplatina

A [(1R,2R)-1,2-ciclobutanodicarboxilato(2-)-O,O]1,4-butanodiamina platina(II), conhecida como lobaplatina, é um fármaco de 3^a geração que foi aprovado na China em 2010 para o tratamento da leucemia mieloide crónica (LMC), cancro da mama metastático e para o CPPC inoperáveis. Este complexo completou ainda ensaios clínicos de fase II nos EUA, Austrália, União Europeia (UE), Brasil e África do Sul para o tratamento de vários cancros, tais como, mama, esófago, ovário e LMC (Tabela 5)⁵⁰.

A lobaplatina é uma mistura diastereométrica de complexos de platina (II), a qual possui um ligando estável denominado de 1,2-bis(aminometil)ciclobutano e um ácido láctico como grupos abandonantes. Relativamente à sua atividade anticancerígena, esta encontra-se associada à formação de adutos de ADN-fármaco, nomeadamente através de ligações intra-cadeias GG e AG. Desta forma, o complexo de 3^a geração influencia a expressão do gene c-myc, gene este que está envolvido no processo de oncogénese, apoptose e proliferação celular⁵⁷.

Tabela 5- Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Lobaplatina⁴⁶.

Complexo	Estrutura Química	Tipos de cancro	Efeitos indesejáveis	Ano descoberta
Lobaplatina		<ul style="list-style-type: none"> Mama Carcinoma hepatocelular Osteosarcoma 	<ul style="list-style-type: none"> Trombocitopenia 	2010

4.3. Farmacoterapia com complexos de Pt(II)

A utilização da quimioterapia combinada é fundamental em muitos tratamentos oncológicos, uma vez que visa maximizar a sinergia entre os diferentes fármacos. Como os mecanismos moleculares dos diversos fármacos podem diferir bastante, a sua combinação torna-se benéfica e mais eficiente, visto que foca-se em múltiplos alvos simultaneamente. Os agentes quimioterapêuticos podem ser classificados em seis grupos, os complexos de coordenação de platina, agentes antimicrotúbulos, antimetabolitos, antibióticos tumorais e, por fim os agentes alquilantes (Figura 10)⁵⁰.

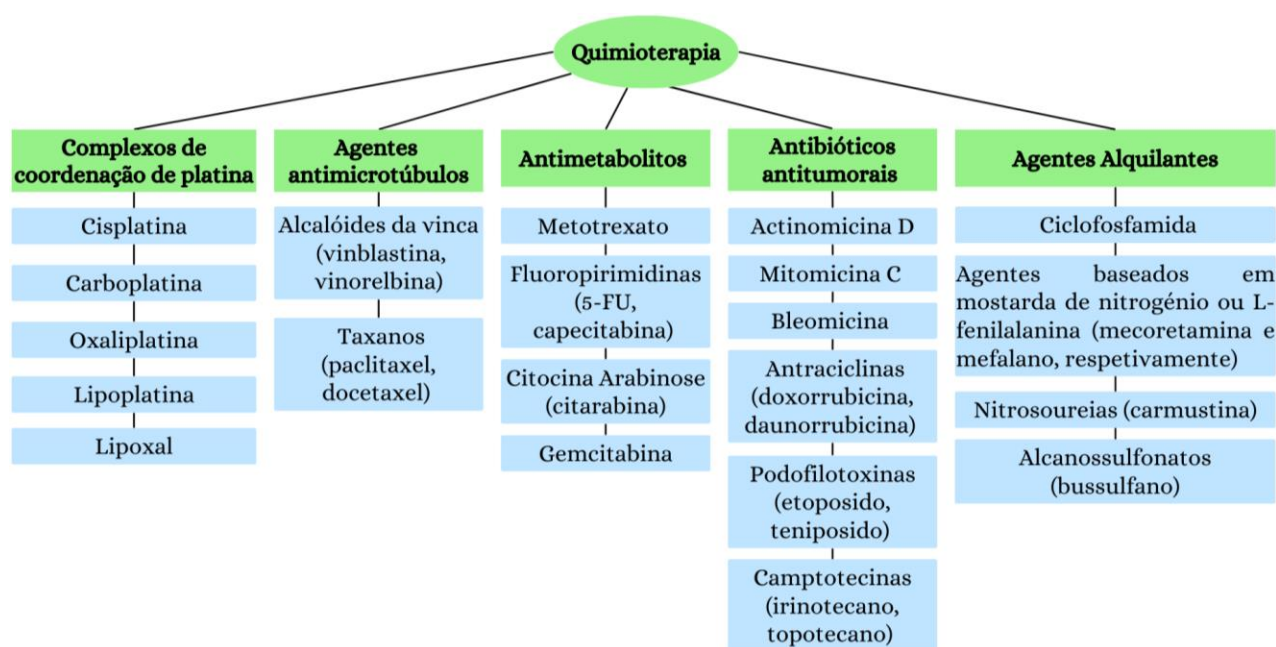


Figura 10- Classificação de fármacos quimioterapêuticos⁵⁰.

O tratamento de primeira linha padronizado para o cancro do pulmão de não pequenas células (CPNPC) avançado, é um complexo de platina juntamente com agentes dos microtúbulos (docetaxel, paclitaxel, vinorelbina) ou antimetabolitos (gemcitabina) ou antibiótico antitumoral (irinotecano). As combinações de gemcitabina (que impede a síntese de ADN), topotecano (um inibidor da topoisomerase I), doxorubicina (que se intercala no ADN bloqueando a topoisomerase II) e etoposido (inibidor da topoisomerase II) são vantajosas devido à sua ação sinérgica contra o cancro. O tratamento concomitante entre estes fármacos e a platina, promove a inibição da reparação do ADN impedindo por sua vez a reparação dos adutos platina-ADN⁵⁰.

4.3.1. Cisplatina

No tratamento oncológico, o complexo cisplatina é frequentemente utilizado como terapia adjuvante. Contudo, apesar deste fármaco ser bastante eficaz provoca vários efeitos adversos e, com o tempo, as células cancerígenas desenvolvem resistência comprometendo a sua eficácia. De modo a minimizar esta resistência e toxicidade, utiliza-se a combinação de múltiplos medicamentos⁵⁸. Foram desenvolvidas várias terapêuticas com a cisplatina (Tabela 6), destacando-se entre elas os seguintes fármacos, paclitaxel, gemcitabina, doxorubicina e tegafur-uracilo (TFU).

O paclitaxel, é um agente que ao se ligar aos microtúbulos estabiliza-os, suprimindo a reformação do complexo de redes de microtúbulos. Este fármaco também induz apoptose em células tumorais através da sua ligação à proteína Bcl-2, que geralmente inibe a morte celular. A terapia com cisplatina e paclitaxel é eficaz no tratamento de vários tipos de cancro, nomeadamente, no cancro dos ovários. A sua eficácia resulta do seu baixo índice terapêutico e elevada transportação intracelular, contribuindo para o aumento da taxa de sobrevivência dos pacientes com cancro dos ovários⁵⁹.

A gemcitabina, é um antimetabolito que possui um efeito antiviral e apresenta uma baixa toxicidade, o que a torna uma opção adequada para tratamento oncológico. Este fármaco quando administrado, é convertido nos seus metabolitos ativos que competem com desoxicitidina trifosfato (dCTP) pela incorporação no ADN, interrompendo a elongação da cadeia e induzindo apoptose. Adicionalmente, inibe a ribonucleotido redutase, diminuindo a competição e prolongando a alta concentração dos seus metabolitos nas células cancerígenas. Em linhas celulares de cancro dos ovários, a interação sinérgica entre a gemcitabina e cisplatina, aumenta a

formação de adutos de platina-ADN e induz alterações dependentes da concentração e da combinação nos níveis de ribonucleotidos (NTP) e desoxiribonucleotidos (dNTP)⁶⁰. Para além disso, é amplamente utilizado com a cisplatina para o tratamento de cancros biliares⁶¹.

A doxorubicina, é um antibiótico antitumoral com uma toxicidade ligeira, é frequentemente utilizada isoladamente ou em combinação devido à sua citotoxicidade. O mecanismo de ação consiste na inibição da replicação e transcrição de ADN, através da sua intercalação com o ADN e bloqueio da topoisomerase II. Os radicais livres também gerados pela doxorubicina, causam danos celulares que induzem o stress oxidativo e apoptose. A sua associação com a cisplatina é muito utilizada para o tratamento de pacientes com cancro endometrial⁶².

O Tegafur-uracilo (TFU), é um pró-fármaco que, quando administrado, é convertido em 5-fluorouracilo (5-FU), que inibe a enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD), que é responsável pela degradação de 5-FU no fígado. Posteriormente, o 5-FU inibe a enzima timidilato sintase, essencial para a síntese de ADN nas células tumorais, interrompendo assim a divisão celular e o crescimento do tumor. Em combinação com a cisplatina, o TFU é utilizado no tratamento do cancro do pulmão de células não pequenas avançado⁶³.

Tabela 6- Exemplos de diferentes combinações terapêuticas com cisplatina^{46,58}.

Composição do fármaco	Tipos de cancro
Cisplatina + Paclitaxel	<ul style="list-style-type: none"> • Ovários • Mama • Pulmão • Cabeça e Pescoço
Cisplatina + Etoposido	CPNPC
Cisplatina + Ciclofosfamida + Doxorrubicina	Glândulas salivares avançadas
Cisplatina + Bleomicina	Carcinoma dos ovários
Cisplatina + Bleomicina + Metotrexato	Carcinoma de células escamosas avançado
Cisplatina + Capecitabina	Carcinoma Gástrico
Cisplatina + Irinotecano	<ul style="list-style-type: none"> • Gástrico • Pulmão • Esofágico
Cisplatina + Doxorrubicina	Mesotelioma pleural maligno difuso (MPMD)
Cisplatina+Doxorrubicina+Fluorouracilo+Ciclofosfamida	Carcinoma das glândulas salivares
Cisplatina + Tegafur-uracilo (TFU)	CPNPC avançado
Cisplatina + Mitocina + Vindesina	CPNPC
Cisplatina + Oxaliplatina + Quercetina + Timoquinona	Ovários
Cisplatina + Gemcitabina	Vias biliares
Cisplatina + Veneno de abelha	Ovários
Cisplatina +Anvirzel	<ul style="list-style-type: none"> • Mama • Cólon • Próstata • Pulmão • Pâncreas • Melanoma
Cisplatina+Ostol	Pulmão
Cisplatina+Everolímus	Bexiga
Cisplatina + Óxido tetraarsénico	Cervical

4.3.2. Carboplatina

A carboplatina comparativamente ao complexo de 1ª geração, apresenta uma menor eficácia em tumores de células germinativas, como o cancro da cabeça e do pescoço, bexiga e esofágico. No entanto, ambos os complexos demonstram uma eficácia semelhante no tratamento do cancro dos ovários, cancro do pulmão de pequenas células e estadios avançados do CPNPC⁶⁴.

Como alternativa à cisplatina, a carboplatina demonstrou uma sinergia com a gemcitabina em estudos *in vitro*, apresentando um perfil de toxicidade não hematológica menor e sendo mais conveniente para administração em ambulatório⁶⁵. Hirsh et al., realizaram um estudo de fase II sobre a utilização da carboplatina e gemcitabina como quimioterapia de indução, seguida de radioterapia combinada com uma baixa dose de paclitaxel e gemcitabina, em doentes com CPNPC no estadio III⁶⁶.

O tratamento habitual para o cancro epitelial do ovário continua a ser cirurgia seguida de quimioterapia com carboplatina e paclitaxel. Contudo, a carboplatina tem apenas contribuído para a diminuição de algumas toxicidades associadas à cisplatina, não se mostrando eficaz contra cancros resistentes à CDDP (Tabela 7)⁶⁷.

Tabela 7- Exemplos de diferentes combinações terapêuticas com carboplatina⁴⁶.

Composição do fármaco	Tipos de cancro
Carboplatina + Paclitaxel	<ul style="list-style-type: none">• Ovários• CPNPC
Carboplatina + Gemcitabina	CPNPC
Carboplatina + Docetaxel	CPNPC
Carboplatina + Vinorelbina	CPNPC
Carboplatina + 5-Fluorouracilo	Esofágico avançado
Carboplatina + Topotecano	Leucemia mieloide aguda
Carboplatina + Irinotecano	Pulmão

4.3.3. Oxaliplatina

Na década de 1980, estudos demonstraram que o ácido folínico aumentava a eficácia de 5-fluorouracilo (5-FU) sem um aumento significativo na toxicidade. Recebeu aprovação nos EUA em 2002, sendo utilizado como 1ª linha para o tratamento do cancro colorretal avançado em combinação com o 5-FU e o ácido folínico, o qual se dá o nome de regime “Folfox”. Atualmente, a quimioterapia do cancro colorretal consiste muitas vezes na combinação de 5-FU/ácido folínico com oxaliplatina (Folfox), capecitabina (CAPOX) ou irinotecano (Folfiri). Adicionalmente, o anticorpo monoclonal cetuximab liga-se competitivamente ao domínio extracelular do recetor do fator de crescimento epidérmico inibindo a dimerização e, conseqüentemente, o crescimento e metastização do tumor, podendo ser combinado com regimes de oxaliplatina para o tratamento do cancro colorretal⁶⁸.

Segundo a Food and Drug Administration (FDA), o regime Nalirifox (Oxaliplatina + Irinotecano lipossomal + Fluorouracilo + ácido folínico) foi aprovado para adenocarcinoma pancreático metastático, após este demonstrar melhorias significativas na sobrevivência global dos pacientes (Tabela 8)⁶⁹.

Tabela 8- Exemplos de diferentes combinações terapêuticas com Oxaliplatina⁴⁶.

Composição do fármaco	Tipos de cancro
Oxaliplatina + Capecitabina (CAPOX)	<ul style="list-style-type: none">• Colorretal• Estômago
Oxaliplatina + 5-FU+ ácido folínico (FOLFOX)	<ul style="list-style-type: none">• Colorretal• Estômago
Oxaliplatina + Irinotecano lipossomal + Fluorouracilo + ácido folínico (NALIRIFOX)	Adenocarcinoma pancreático metastático

5. Cisplatina

5.1. Estrutura e atividade

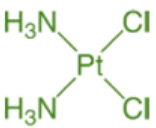
A cisplatina foi sintetizada por Michele Peyrone no final do século XIX, e conhecida assim como cloreto de Peyrone. O biofísico Barnett Rosenberg, em 1965, descobriu a atividade anticancerígena da cisplatina através da análise do efeito dos campos elétricos no crescimento bacteriano. Para além da análise realizada aos campos elétricos, concluiu também que a proliferação bacteriana era inibida por alguns compostos de platina⁴¹.

Na década de 60, tanto a descoberta da atividade anticancerígena da cisplatina {cis-[PtCl₂(NH₃)₂]} como o êxito clínico demonstrado, suscitaram um interesse considerável na exploração de compostos metálicos para tratamento oncológico. Alguns compostos metálicos foram, posteriormente, sintetizados e avaliados como potenciais agentes quimioterapêuticos, embora apenas uma minoria tenha obtido aprovação clínica⁵².

Têm exibido também atividade anticancerígena promissora diversos complexos, tais como, complexos de ruténio, ouro, metalocenos de titânio, nióbio, molibdénio e rénio. Para além destes complexos, destacaram-se ainda os complexos derivados da platina (II), a carboplatina e oxaliplatina, que complementam a eficácia da cisplatina^{41,52}.

Após a realização de inúmeros ensaios clínicos, que se iniciaram em 1971, a cisplatina obteve aprovação para uso no tratamento de cancro testicular com uma taxa de cerca de 90% de eficácia, cancro dos ovários, cabeça, pescoço, bexiga, cervical, melanoma, linfoma, entre outros. Esta aprovação foi dada pela FDA em 1978, sendo hoje em dia, a cisplatina um dos fármacos anticancerígenos mais benéficos para o tratamento oncológico (Tabela 9)^{41,52}.

Tabela 9-Propriedades e Aplicações Terapêuticas da Cisplatina⁴⁶.

Complexo	Estrutura Química	Tipos de cancro	Efeitos indesejáveis	Ano descoberta
Cisplatina		<ul style="list-style-type: none">• Testicular• Ovários• Bexiga• CPNPC	<ul style="list-style-type: none">• Nefrotoxicidade• Neurotoxicidade• O toxicidade	1978

A platina no estado de oxidação +2 (Pt(II)) forma complexos de coordenação de geometria quadrangular plana à volta do centro metálico. Embora os complexos octaédricos sejam bastante comuns para um grande número de metais de transição, não são conhecidos exemplos de complexos octaédricos com a platina neste estado de oxidação. Este facto leva a uma química muito particular, em que as principais reações químicas envolvendo o centro metálico são reações de substituição. Neste caso, e porque a Pt(II) é um metal considerado macio, são preferíveis (pelo menos do ponto de vista cinético) os ligandos com átomos doadores macios como o enxofre. Estas características químicas contribuem para a atividade terapêutica destes complexos, mas também estão na origem de alguns dos mecanismos de resistência a estes fármacos⁷⁰.

O complexo cisplatina, também conhecido como cis-diaminodicloroplatina (II) desempenhou um papel crucial na teoria química de coordenação. A CDDP, contém dois ligandos lábeis e dois ligandos neutros que são inertes em condições biológicas, verificando-se assim que complexos neutros com dois ligandos lábeis em posição cis e dois ligandos com fraco efeito trans são os que apresentam melhores resultados. A presença de ligandos bidentados geralmente promove a formação do isómero cis. Adicionalmente, os complexos de geometria quadrangular plana podem ser quirais se os ligandos forem também, sendo os isómeros cis e trans mais frequentemente encontrados nesses tipos de complexos⁷⁰.

Os resultados obtidos nas reações de substituição em complexos de Pt(II) envolvendo os ligandos cloreto e amoníaco sugerem que o efeito trans do ligando cloreto é superior ao do ligando amoníaco. As sequências reacionais seguintes (Figuras 11 e 12) mostram que a substituição se dá preferencialmente na posição oposta ao ligando cloreto e que o produto final depende da sequência reacional escolhida⁷⁰.

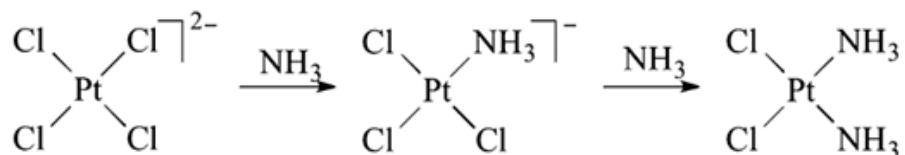


Figura 11- Reação de substituição num complexo de platina(II) com amoníaco. O composto inicial, $[\text{PtCl}_4]^{2-}$, passa por uma reação com NH_3 , onde um átomo de cloro é substituído por uma molécula de amoníaco, formando $[\text{PtCl}_3(\text{NH}_3)]^{-}$. A segunda adição de NH_3 resulta na formação do complexo cis- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, também conhecido como cisplatina⁷⁰.

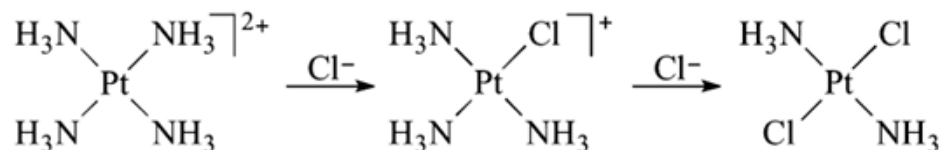


Figura 12- Reação de substituição num complexo de platina(II) com cloreto. O composto inicial, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, reage com cloreto (Cl^-), substituindo progressivamente os ligandos de amoníaco por cloro, formando $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_3\text{Cl}]^+$ como intermediário e, posteriormente, $\text{trans-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, também conhecido como transplatina⁷⁰.

Quando o ligando altera as propriedades termodinâmicas do estado fundamental de um complexo através do aumento na distância metal-ligando, que pode ser observado em espectroscopia de ressonância magnética nuclear por uma diminuição no acoplamento metal, ligando ou, por uma diminuição na frequência de estiramento, utiliza-se o termo de “influência trans” para distinguir estas alterações do efeito trans propriamente dito, que por sua vez aumenta a taxa de substituição⁷⁰.

Este complexo apresenta uma configuração quadrangular plana e isómeros distintos, o cis e o trans, a cisplatina e a transplatina $\{\text{trans-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]\}$ (Figura 13)⁵².

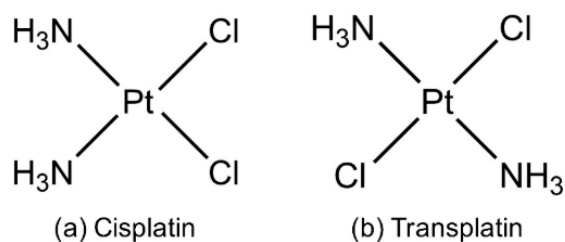


Figura 13- Estruturas químicas dos isómetos de platina, (a) cisplatina e (b) transplatina⁷¹.

Por outro lado, comparativamente com a cisplatina, a transplatina demonstrou ser ineficaz contra células cancerígenas devido, não só à sua elevada reatividade mas bem como a sua rápida desativação. Embora a transplatina formasse ligações cruzadas, estas eram maioritariamente 1,3-intracadeias e intercadeias, sendo que estas últimas resultam numa alta toxicidade pois os processos celulares são dependentes da separação da cadeia de ADN, incluindo a transcrição e replicação^{72,73}.

De modo a simplificar e focar na compreensão do mecanismo de ação, o mecanismo da cisplatina é frequentemente utilizado como referência representativa para os complexos de platina, dado que este engloba de forma geral os efeitos destes compostos e o motivo das suas propriedades terapêuticas.

5.2. Mecanismo de ação

5.2.1. Ligação da cisplatina ao ADN

Os primeiros estudos efetuados sobre a cisplatina visavam aprofundar a compreensão da hidrólise do complexo, pois a ativação por hidrólise havia sido previamente estabelecida como o passo limitante de velocidade. Eventualmente, foi descoberto que a orientação cis dos grupos abandonantes permitiam a ligação de duas bases de guanina adjacentes na mesma cadeia resultando por sua vez na torção na hélice de ADN, levando à imobilização das polimerases no local da torção^{38,74}.

Durante vários anos presumiu-se que a cisplatina entrava nas células por difusão passiva, uma vez que a sua absorção é dependente da concentração e não é saturável. No entanto, foram realizados estudos que revelaram que o transportador de cobre 1 (CTR1) é também responsável pela absorção do complexo de cisplatina nas células tumorais. O complexo de platina provoca a diminuição da concentração de CTR1, o que resulta numa menor acumulação de cisplatina pelas células cancerígenas. Por outro lado, as células que apresentam uma maior expressão de CTR1 têm a capacidade de armazenar uma maior quantidade de cisplatina, que se traduz numa maior sensibilidade à mesma ^{38,41,46}.

O mecanismo de ação da cisplatina está maioritariamente relacionado com a ligação ao ADN, após a entrada do complexo nas células tumorais (Figura 14). Uma vez dentro da célula, a cisplatina é ativada através de uma reação de substituição dos ligandos de cloro por ligandos de água, formando um eletrófilo com afinidade por grupos sulfidrílicos em proteínas e átomos doadores de azoto em ácidos nucleicos, uma vez que água é um melhor grupo abandonante comparativamente com o cloreto ⁴⁶. Esta substituição é desencadeada pela baixa concentração de iões cloreto a nível intracelular (~4mM) comparativamente com a extracelular (~100mM) ^{8,38,75}.

No citoplasma, a cisplatina liga-se ao ADN formando ligações cruzadas entre intracadeias e intercadeias que alteram a estrutura do ADN causando danos. O complexo cisplatina liga-se no local mais nucleofílico do ADN, que é a posição N7 da guanina, ocorrendo posteriormente a formação dos adutos^{8,58}.

A formação dos adutos resulta das interações 1,2-intracadeias, que envolvem duas bases de guanina adjacentes de ADN, e das interações 1,2-intracadeias, que inclui uma base de adenina e uma base de guanina adjacente do ADN(Figura 15). Estes adutos vão interferir com a replicação

e transcrição de ADN, levando assim à inibição da divisão celular ou pode induzir a célula à morte celular programada (apoptose) ^{58,75}.

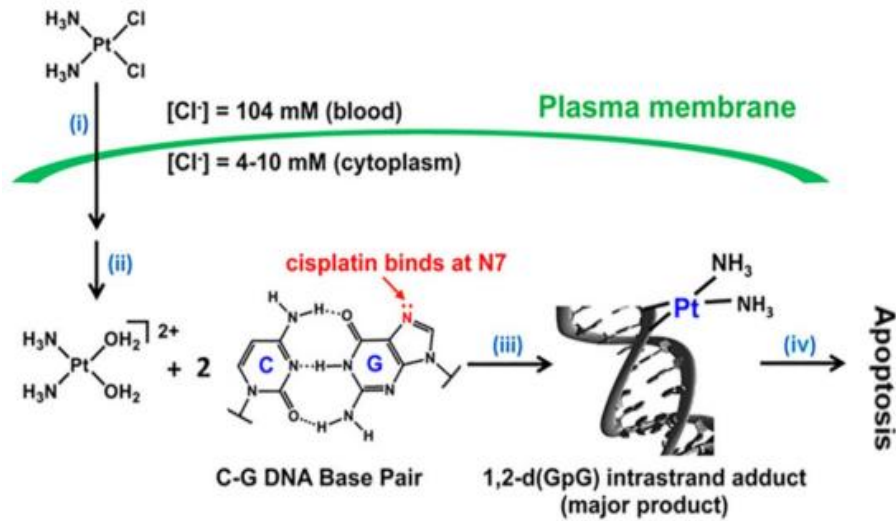


Figura 14- Mecanismo da principal via de ação da cisplatina incluindo os seguintes passos: i) absorção celular, ii) ativação, iii) formação dos adutos, iv) apoptose ⁸.

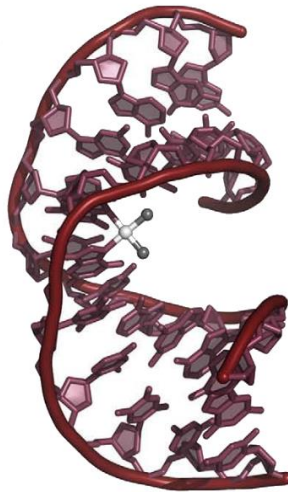


Figura 15- Estrutura de ADN de cadeia dupla incluindo o aduto 1,2 intracadeia da cisplatina ⁷⁶.

Para além do seu envolvimento com o ADN nuclear, a cisplatina possui outras vias de atuação envolvendo o ADN mitocondrial e alguns organelos da célula (Figura 16).

5.2.2. Stress oxidativo

O mecanismo do stress oxidativo é amplamente associado à citotoxicidade da cisplatina. O complexo induz o stress oxidativo ao produzir espécies reativas de oxigénio (EROs), tais como, os radicais hidroxilo e superóxido. A produção destas espécies está condicionada pela concentração de cisplatina e o seu tempo de exposição⁷⁷. A homeostasia das reações de oxidação-redução intracelulares são reguladas por moléculas que possuem grupos tiol (-SH). Em condições específicas, um grupo tiol pode originar a formação de radicais contendo um átomo de enxofre com um eletrão desemparelhado que, por sua vez podem interagir com o oxigénio molecular gerando EROs³⁸.

A exposição ao stress oxidativo pode perturbar as funções biológicas, sendo as EROs consideradas responsáveis pela peroxidação lipídica, depleção de grupos sulfidrílicos, pela alteração de vias distintas de transdução de sinal, homólise do cálcio, entre outros processos que podem provocar danos no ADN e, por sua vez conduzir à morte celular programada⁷.

A CDDP que induz o stress oxidativo, tem como principal alvo as mitocôndrias, resultando numa perda significativa da proteína contendo grupo sulfídrico, na inibição da captação de cálcio e na diminuição do potencial da membrana mitocondrial⁷⁸.

A Bax, também conhecida como proteína X associada à Bcl-2 é um interveniente crucial nos processos celulares relacionados à apoptose, que juntamente com as EROs e o influxo de iões de cálcio, desempenham um papel fundamental na indução de danos do ADN mitocondrial e na instabilidade da transição de permeabilidade mitocondrial, o que contribui para a rutura das mitocôndrias^{46,79}.

As EROs tanto podem induzir a apoptose por meio de via extrínseca, como de intrínseca⁸⁰. Na via intrínseca, dá-se a rutura da mitocôndria que liberta o citocromo C e a procaspase-9, que é uma proteinase específica do aspartato de cisteína, ligam-se ambos a um fator de ativação da protease apoptótica 1 designada de Apaf-1 citosólica, e ao ATP de modo a formar um complexo apoptossoma que ativa a caspase-9⁸¹. A caspase-9 após ser ativada, vai interagir com outras caspases, como a caspase-3, caspase-6 e a caspase-7, levando à clivagem de substratos-chave e, por sua vez, à apoptose⁸².

Na via extrínseca, as EROs são geradas pelo ligando Fas (Fasl) e pela proteína transmembranar do tipo II, desencadeando ativação do recetor Fas por fosforilação e, facilitando posteriormente a formação do complexo apoptossoma através do fator de ativação de morte associado ao Fas (FADD) e da procaspase-8. O complexo apoptossoma ativa a caspase-8, que subsequentemente ativa as restantes caspases, nomeadamente a caspase-3, caspase-6 e a caspase-7, que vão depois clivar o substrato principal e induzir a apoptose celular^{46,83}.

5.2.3. Interação de adutos cisplatina-ADN através da proteína HMG1

Existem várias proteínas, como as proteínas de grupo de alta mobilidade (HMG), que possuem a capacidade de reconhecer as ligações cisplatina-ADN. A proteína HMG1 liga-se seletivamente aos adutos de 1,2-cisplatina-ADN, podendo deste modo protegê-los de reparação do ADN⁸⁴.

O complexo cisplatina-ADN-HMG1 pode seguir três vias distintas. O primeiro caminho engloba o mecanismo de reparação por excisão de nucleótidos (NER) para obter a reparação do ADN e a célula sobreviver. A segunda via baseia-se no chamado modelo de proteção da reparação, no qual está estipulado que a proteína HMG pode proteger os adutos cisplatina-ADN do reconhecimento através das enzimas de reparação do ADN. Por fim, o terceiro mecanismo é denominado de “hijacking model”, que estabelece que as proteínas HMG, como a SSRP1, podem ser capazes de alterar eventos do ciclo celular após danos no ADN e desencadear apoptose⁸¹.

5.2.4. Mecanismo de reparação do ADN

O mecanismo de reparação de ADN constitui um papel importante na citotoxicidade induzida pela cisplatina. Quando se efetua o tratamento com a CDDP, o ADN da célula cancerígena sofre danos, principalmente pela formação de ligações intra-cadeias cruzadas entre bases de guanina. Existem dois sistemas principais de reparação do ADN que estão relacionados na resposta a esses danos, a reparação através de NER(nucleotide excision repair) e o MMR (mismatch repair)⁸⁵.

O sistema NER é composto por cerca de 17 proteínas diferentes, as quais são responsáveis tanto por reconhecer como remover os adutos cisplatina-ADN. Este processo envolve a excisão de uma sequência de ADN contendo até 29 pares de bases ao redor do local afetado. Posteriormente à excisão, a ADN polimerase atua de modo a preencher a lacuna deixada, restaurando assim a integridade do ADN⁸⁶.

Relativamente ao sistema MMR, este tenta corrigir os erros de emparelhamento que ocorrem na cadeia de ADN não danificado oposta ao aduto de cisplatina. No entanto, quando este sistema falha na reparação do dano, ocorre a apoptose da célula. Este mecanismo é essencial para a eficácia da cisplatina como agente anticancerígeno, uma vez que a incapacidade de reparar adequadamente o ADN danificado resulta na eliminação das células tumorais⁸⁷.

5.2.5. Apoptose induzida por cisplatina

A morte celular programada, também conhecida como apoptose, pode ser desencadeada pela cisplatina através da indução da paragem do ciclo celular (fases G1, S e G2)⁸⁸. Estas paragens permitem que as células tenham um tempo adequado para que haja a reparação do ADN danificado previamente à síntese do ADN. O complexo de 1ª geração promove a ativação das quinases de controlo, a Chk1 e Chk2, que desempenham um papel importante no que diz respeito às paragens nas fases G e S⁸⁹.

Havendo uma interrupção destas paragens pode resultar na morte das células tumorais, forçando-as a reentrar precocemente no ciclo celular devido a danos no ADN não reparados, facilitando, desta forma, a apoptose celular através da via NER⁹⁰.

5.2.6. Papel da proteína p53 na apoptose induzida por cisplatina

A proteína p53, conhecida como “guardiã do genoma”, é uma proteína supressora de vida curta que tem como função a conservação da estabilidade, impedindo assim a mutação do genoma. Esta proteína é ativada por duas quinases distintas, a ATM e a ATR. Posteriormente, a cisplatina ativa a quinase ATR, que por sua vez, também ativa o p53 fosforilando-o na serina-15^{91,92}.

Após ser fosforilado, o p53 ativa os genes p21, Mdm2 e GADD45, que são responsáveis pela paragem do ciclo celular e desencadeiam apoptose através da via de reparação do ADN. Por outro lado, a proteína supressora provoca apoptose de forma direta por outros mecanismos, tais como, a degradação de FLIP, sobre-expressão de PTEN e ligação direta e neutralização da função antiapoptótica de Bcl-xL. Além disso, o p53 ativa a família de proteínas PUMA, PIDD, MAPK, que são essenciais para morte celular programada^{93,94}.

Existe ainda outra possibilidade de entrar na via mitocondrial, através da ativação da Bax que se encontra presente no citosol, de modo atingir apoptose. Por fim, foi igualmente referido que o p53 permite a ativação de Fas/FasL, que conduz à morte celular pela via da caspase 8 e 3⁹⁵.

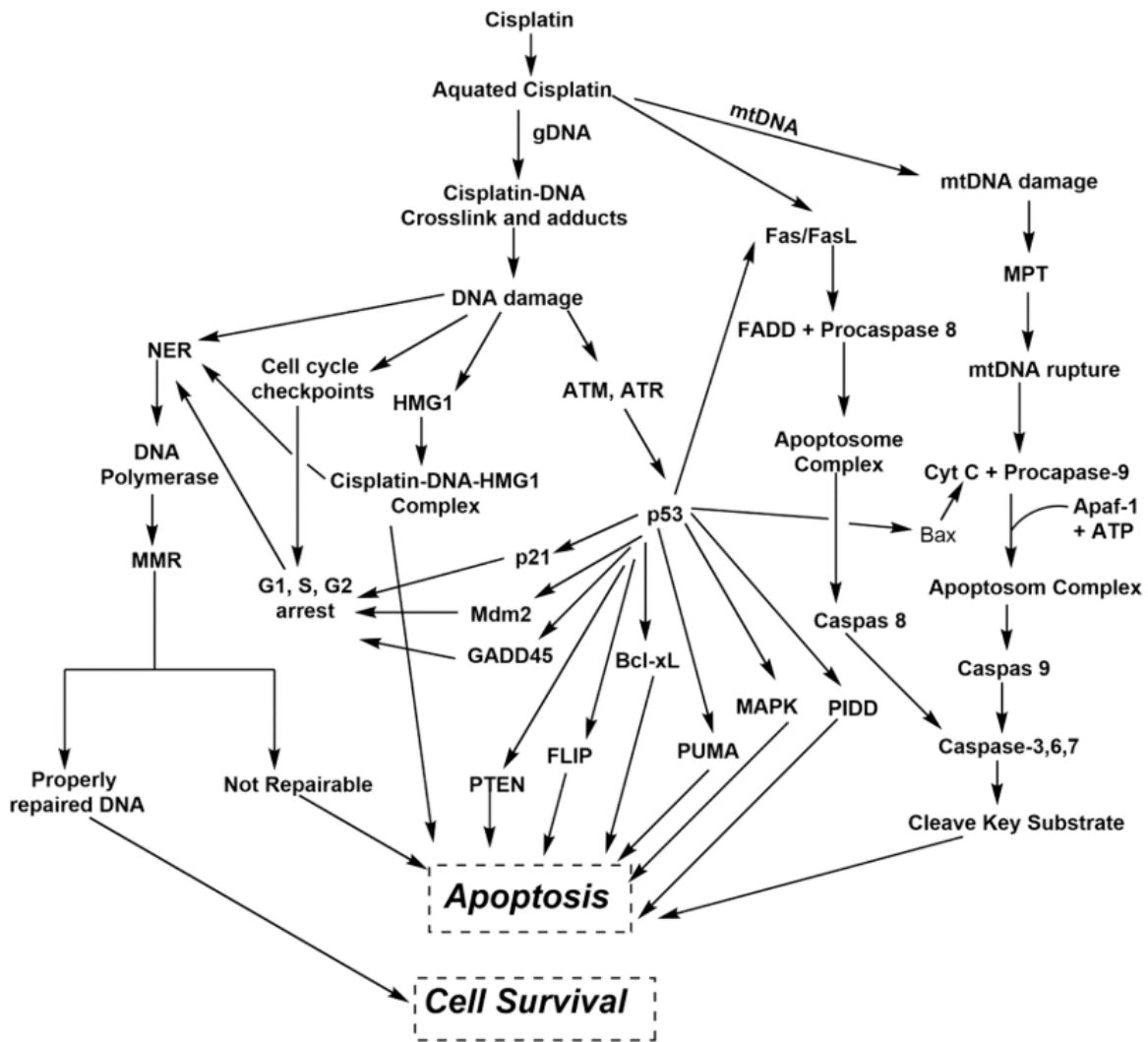


Figura 16-Esquema do mecanismo de ação da cisplatina no ADN celular e vias de resposta⁴⁶.

6. Toxicidade da Cisplatina

A toxicidade da cisplatina é um dos inconvenientes da sua terapia, resultante da ligação covalente ao ADN, e também do aumento do stress oxidativo induzido pelo fármaco que ocorre quando os sistemas de defesa celular são ativados para formar adutos cisplatina-ADN. Desta forma, os órgãos frequentemente mais afetados são os rins, o sistema auditivo e os nervos periféricos⁹⁶.

6.1. Nefrotoxicidade

A excreção renal é a principal via de eliminação da cisplatina permitindo que os rins acumulem uma quantidade de cisplatina muito superior em comparação com os restantes órgãos, através do funcionamento transportador de cobre 1 (CTR1) e do transportador de catiões orgânico 2 (OCT2). Por sua vez, a lesão renal aguda com oligúria associada, continua a ser o problema mais comum em pacientes tratados com cisplatina, sendo a hidratação maioritariamente a abordagem utilizada para prevenir a nefrotoxicidade induzida pelo fármaco⁹⁶.

Foram implementados regimes de hidratação de curta duração e baixo volume para melhorar a segurança sem prejudicar a eficácia clínica da cisplatina no tratamento oncológico dos pacientes. Crona et al., demonstraram que estes regimes eram seguros e adequados, mesmo em doentes submetidos a doses moderadas a altas de cisplatina⁹⁷.

Para além disso, pode ser também benéfico a administração de manitol, uma vez que esta substância é um agente osmótico que aumenta a diurese e, conseqüentemente, a concentração de cisplatina nos rins. No entanto, o manitol não é recomendado em regimes de diurese forçada, pois pode aumentar significativamente a eliminação de grandes volumes de urina provocando desidratação nos pacientes. Porém, os doentes que estejam a ser tratados com doses elevadas de cisplatina, por exemplo 100 miligramas por metro quadrado (mg/m^2), podem beneficiar do manitol em regime de diurese forçada prevenindo a nefrotoxicidade⁹⁸.

6.2. Neurotoxicidade

A neuropatia induzida pela cisplatina é classificada como uma neuropatia sensorial periférica, manifestando-se principalmente nas mãos e nos pés, podendo alastrar até aos cotovelos e joelhos. Esta neuropatia é predominantemente sensorial, uma vez que os neurónios motores normalmente não são afetados⁹⁶.

A persistência dos sintomas sensoriais anormais, como parestesia, sensação de ardor, dor entre outros, contribui para uma diminuição da qualidade de vida dos pacientes, sendo esta frequentemente afetada mesmo após o tratamento com cisplatina. Este problema, pode levar à suspensão precoce do tratamento oncológico. Em alguns pacientes, pode ocorrer a degeneração das grandes fibras sensoriais mielinizadas das colunas dorsais da medula espinal, o que resulta na propagação de uma sensação de choque elétrico da região cervical até região caudal da coluna vertebral, este acontecimento é conhecido como o fenómeno Lhermitte⁹⁹.

Embora haja alguns estudos relativos à utilização da vitamina E e ácido α -lipóico, não existe ainda nenhum tratamento eficaz para a neuropatia periférica induzida pela cisplatina⁹⁶.

6.3. Ototoxicidade

O tratamento com cisplatina causa perda auditiva progressiva, irreversível e bilateral em frequências altas, sendo também muito comum a dor de ouvido e o zumbido. A ototoxicidade é caracterizada pelo acúmulo elevado de cisplatina nas células cocleares através do transportador de cobre 1 (CTR1) e do transportador de catiões orgânico 2 (OCT2)⁹⁶.

É relevante ter em conta a idade dos pacientes, uma vez que crianças são mais suscetíveis que os adultos a desenvolver perda auditiva. Nestes casos, a administração de tiosulfato de sódio confere uma proteção contra a perda de audição, no entanto, se o tiosulfato for iniciado seis horas antes do tratamento da cisplatina estar completo pode ligar-se ao complexo inativando-o, e desta forma, reduzindo a sua eficácia anticancerígena¹⁰⁰.

7. Mecanismos de resistência

A cisplatina é frequentemente utilizada juntamente com outra medicação não só pelos seus efeitos indesejáveis, mas também pela procura de possíveis sinergias que potenciem o efeito terapêutico. Apesar de apresentar uma ampla efetividade no tratamento oncológico de vários cancros, a cisplatina pertencente à 1ª geração, não é por si só específica, causando desta forma toxicidade sistémica. Os fármacos de platina apresentam alguns efeitos indesejáveis significativos, tais como, nefrotoxicidade, ototoxicidade, neurotoxicidade, mielossupressão e, em uso prolongado, pode originar danos graves nos tecidos normais⁸.

Atualmente, estima-se que aproximadamente 50% dos pacientes com cancro são tratados com cisplatina. O complexo tem sido uma das medicações citotóxicas anticancerígenas mais utilizadas devido à sua elevada eficácia em diversos tipos de cancro⁴⁶.

A resistência à cisplatina varia consoante o tipo de cancro, isto é, enquanto que o cancro testicular, o cancro dos ovários, da cabeça, do pescoço e o cancro do pulmão de células pequenas são altamente sensíveis à cisplatina, o cancro do pulmão de células não pequenas e o colorretal são muito resistentes à ação do complexo^{46,101}.

Desta forma, é possível verificar 2 tipos de resistência: a resistência inata, em que esta surge antes da exposição ao tratamento com o fármaco, e a resistência adquirida, na qual o fármaco é primeiramente ativo e apenas ao longo do tempo se torna inativo^{46,101}.

Os mecanismos de resistência ao complexo de cisplatina são multifatoriais resultando em inúmeras limitações no uso clínico. Geralmente, as moléculas envolvidas nos mecanismos de resistência ao fármaco apresentam uma expressão aumentada em células resistentes à cisplatina, sugerindo assim que os fatores de transcrição ativados em resposta ao complexo desempenhem um papel crucial na determinação da resistência farmacológica⁷.

Existem diversos mecanismos envolvidos na resistência à cisplatina, dos quais se destacam os seguintes: alterações no transporte celular da cisplatina, aumento do efluxo de cisplatina, inativação intracelular da cisplatina, aumento da eficácia de mecanismos de reparação de danos no ADN, inibição de processos de apoptose, alterações nos processos de autofagia, alterações na mitocôndria das células cancerígenas e alterações no microambiente tumoral (Figura 26) ⁷.

7.1. Alterações no transporte celular da cisplatina

7.1.1. Redução da intensidade de captação celular de cisplatina

Um dos mecanismos de resistência à cisplatina é a redução da intensidade de captação celular do fármaco. O complexo cisplatina entra para o interior das células no processo de difusão passiva, mas também pelos transportadores de membrana CTR1 e CTR2, que pertencem à superfamília de transportadores de proteínas de membrana codificadas, respetivamente pelos genes, SLC31A1 e SLC7A2. São responsáveis pelo processo de transporte de iões de cobre nas células e contribuem para a importação de cisplatina para as células¹⁰².

O CTR1 é o transportador diretamente responsável pelo transporte de iões metálicos, que se liga aos iões de cobre e platina, importando-os para o interior das células através do seu ectodomínio de ligação a metais. A proteína CTR2 funciona como um regulador da CTR1, que ao clivar o ectodomínio, diminui a sua afinidade pelos iões cobre e platina, alterando a intensidade do transporte intracelular de iões de cobre e cisplatina¹⁰³⁻¹⁰⁵.

Em células resistentes à cisplatina, observam-se alterações na atividade dos transportadores referidos, o que leva a uma diminuição do influxo do fármaco para o interior das células. Estas observações foram comprovadas por Lee et al., que mostraram as células resistentes ao fármaco demonstram uma diminuição considerável do nível da proteína CTR1 e aumento do nível da proteína CTR2, resultando numa menor absorção de cisplatina por estas células e, por sua vez uma menor eficácia¹⁰⁴⁻¹⁰⁶.

Adicionalmente, Yoshida et al., obtiveram observações semelhantes ao estudo previamente referido, sugerindo que o rácio entre a proteína CTR2/CTR1 poderá constituir um biomarcador útil para estabelecer a sensibilidade de um tumor à cisplatina, uma vez que este rácio quando está aumentado, a taxa de sobrevivência é menor (Figura 17)¹⁰⁷.

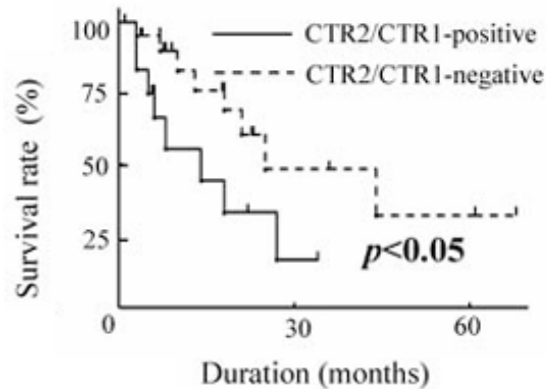


Figura 17- Representação do grudo com rácio CTR2/CTR1 positivo que teve uma sobrevivência global significativamente mais curta em comparação com o grupo negativo¹⁰⁷.

7.1.2. Aumento do efluxo de cisplatina

Existem outros mecanismos de resistência à cisplatina, entre eles, o aumento da exportação de fármaco. O complexo CDDP é transportado para fora das células através dos transportadores ATP7A e ATP7B, que estão classificados no grupo das ATPases do tipo P transportadoras de metais pesados. A principal função destes transportadores é a exportação de iões de cobre para o exterior das células, o que é possível uma vez que a presença de domínios de ligação a metais na sua estrutura permite a ligação e transporte de iões metálicos para fora das células. Estes transportadores possuem uma particularidade muito importante, que é a capacidade de transportarem iões de platina, o que resulta num mecanismo bastante significativo para a exportação de cisplatina das células (Figura 18)¹⁰⁸.

Segundo Li et al., a resistência cruzada entre fármacos à base de cobre (Cu) e de platina é bidirecional sugerindo que estes medicamentos podem partilhar o mesmo mecanismo de transporte. De acordo com Katano et al., as taxas de efluxo dos fármacos de platina eram consideravelmente superiores em linhas celulares resistentes, quando comparadas às células sensíveis, sendo que esta resistência está associada à superexpressão de ATP7A e ATP7B¹⁰⁹.

A superexpressão de ATP7B em células do carcinoma do ovário 2008, demonstrou um aumento relevante na velocidade do efluxo dos fármacos e por sua vez uma resistência mais acentuada aos compostos de platina¹¹⁰. De igual modo, a transfeção do ADN complementar (ADNc) do ATP7B juntamente com a linha celular KB-3-1 resultou numa resistência 8,9 vezes superior aos fármacos de platina e numa diminuição de cerca de 50% na acumulação intracelular de fármacos¹¹¹.

A ATP7A e ATP7B possuem seis domínios de ligação a metais (MBD) nas suas regiões N-terminais, que incluem a sequência GMxCxxC. Os motivos CxxC presentes nos MBDs são importantes para que os transportadores possam mediar a resistência à platina. Quando se dá a ligação entre os fármacos de platina e os motivos CxxC, formam-se quelatos estáveis e não reativos, o que contribui para a resistência a estes compostos¹¹².

Os fármacos de platina, assim como o cobre, têm a capacidade de serem transportados para os MBDs da proteína chaperona de cobre Atox 1, onde se ligam aos motivos CxxC¹⁰⁸. Os níveis intracelulares de cobre regulam a expressão e funcionamento de ATP7A e ATP7B. Desta forma, a homeostase intracelular do cobre pode influenciar a eficácia dos compostos de platina¹¹³.

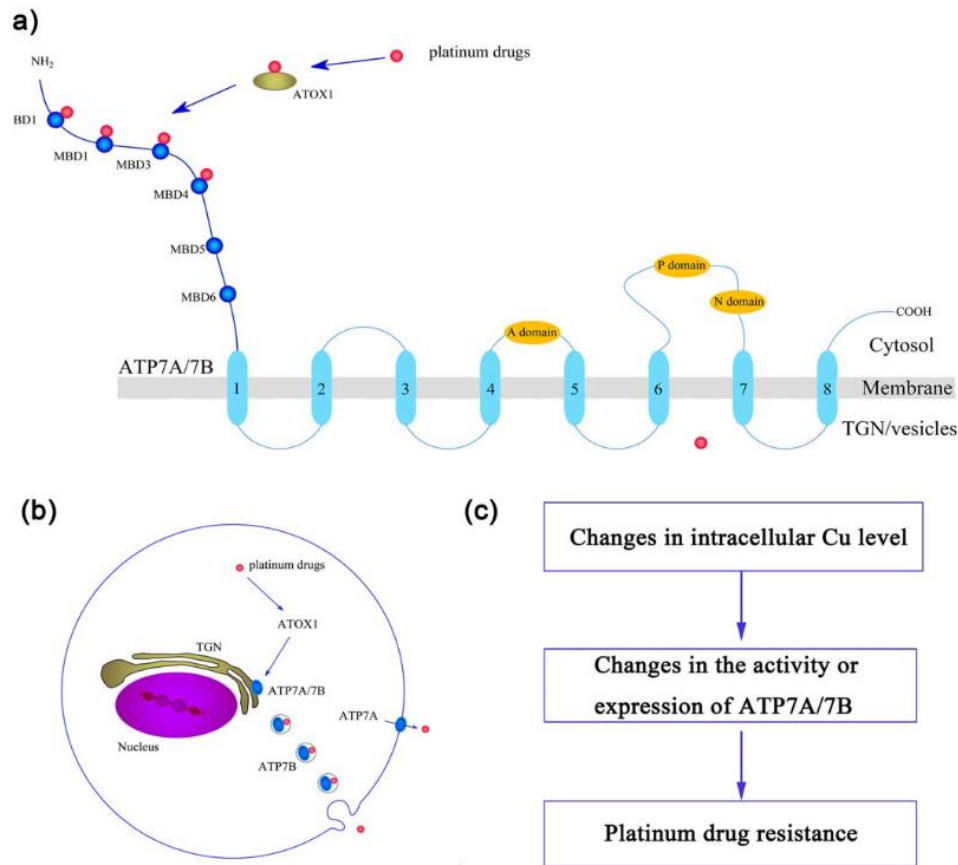


Figura 18- Mecanismos da ATP7A/7B na resistência aos fármacos de platina. (a) Os fármacos de platina ligam-se aos MBDs de ATP7A/7B para formar quelatos estáveis e não reativos ou causam sequestro vesicular. (b) ATP7A e ATP7B recebem fármacos de platina de ATOX1 e exportam fármacos das células. (c) Os níveis de Cu modulam a resistência à platina¹⁰⁸.

Fu et al., avaliaram o efeito do uso de quelantes de cobre e carboplatina em cinco pacientes com cancro do ovário epitelial de alto grau resistente à platina, em que um paciente obteve remissão parcial, um apresentou progressão da doença e os três restantes mantiveram-se estáveis. O estudo sugere uma abordagem inovadora, onde os quelantes de cobre podem contribuir para superar parcialmente a resistência aos fármacos de platina¹¹⁴.

Adicionalmente, Chen et al. observaram que a D-penicilamina, um quelante de cobre, aumentou a eficácia dos fármacos de platina em casos de cancro cervical humano resistente à oxaliplatina ao diminuir a expressão de ATP7A. De modo semelhante, Chisholm et al. relataram que o tetratiomolibdato de amónio (TM), também um quelante de cobre, aumentou a sensibilidade do cancro da mama à cisplatina, ao atuar na proteína ATP7A (Figura 19)^{115,116}.

Os tumores resistentes à cisplatina expressam níveis elevados de ATP7A que sequestram a cisplatina no citoplasma para impedir a sua localização nuclear e também bombeiam a cisplatina para fora das células. A presença de TM reduz os níveis intracelulares de ATP7A, facilita a localização nuclear da cisplatina, aumenta os danos no ADN e, conseqüentemente, sensibiliza os tumores resistentes à terapia com cisplatina¹¹⁶.

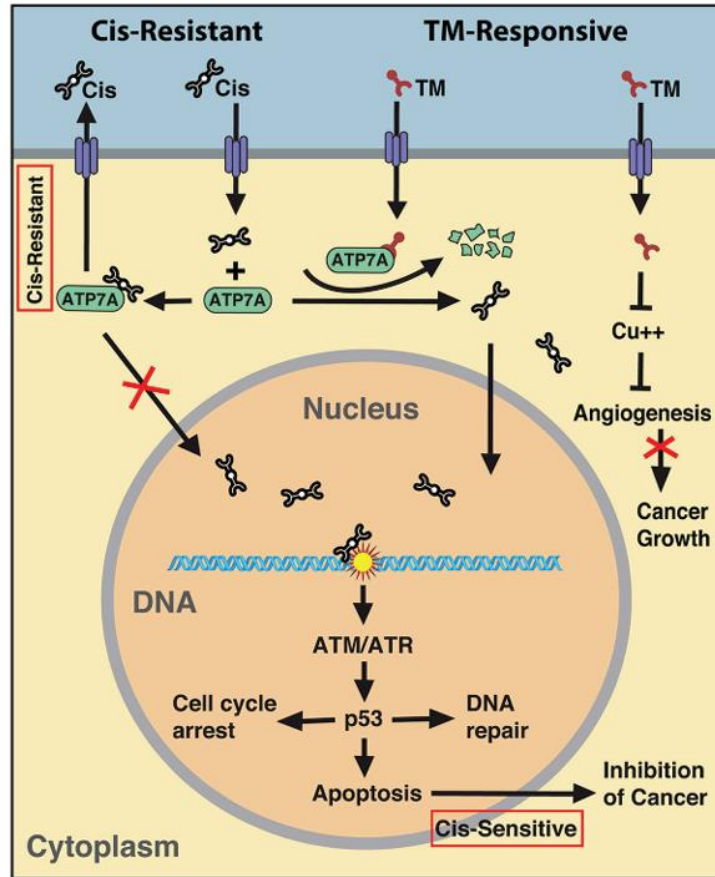


Figura 19- Resumo do mecanismo de sinergia entre a cisplatina e a tetratiomolibdato de amônio (TM)¹¹⁶.

Em células cancerígenas, quando há uma superexpressão dos transportadores, a intensidade do transporte do fármaco a partir das células aumenta, o que se traduz na diminuição de cisplatina acumulada nas células tumorais e, conseqüentemente, na intensificação da resistência à CDDP¹¹⁷.

Komatsu et al. comprovaram que, devido à forte correlação existente entre o transportador ATP7B e a resistência à cisplatina, esta proteína pode ser utilizada como um biomarcador de modo a determinar a sensibilidade de um tumor ao complexo cisplatina¹¹¹.

7.2. Inativação intracelular da cisplatina

Outro mecanismo de resistência bastante importante é a inativação intracelular da cisplatina, levando a uma redução da quantidade de fármaco capaz de se ligar ao ADN. Após a ativação no interior das células, a cisplatina pode ligar-se não só ao ADN, como também a outros constituintes celulares nucleofílicos, como a glutatona (GSH) ou as metalotioneínas (MT), que possuem átomos doadores de enxofre, provocando assim a sua inativação e perda do efeito citotóxico¹¹⁸.

A inativação da cisplatina por moléculas contendo tiol relaciona-se com a glutatona, uma vez que as glutatona-S-transferases (GSTs) catalisam a conjugação da GSH ao complexo de cisplatina, originando conjugados de platina-glutatona e desta forma, inativando o fármaco visto que a solubilidade aumenta sendo posteriormente excretado da célula¹¹⁹.

De acordo com os estudos realizados por Wang et al., as glutatona-S-transferases- π (GST- π) desempenham um papel relevante na resistência à cisplatina das células estaminais do cancro do pulmão, através da diminuição dos níveis de EROs. Além disso, demonstraram também que a regulação da expressão das GST- π , com o consequente aumento da concentração de espécies reativas de oxigénio, poderiam tornar as células estaminais cancerígenas pulmonares mais sensíveis à quimioterapia¹²⁰.

De igual modo ao que ocorre com a glutatona, a CDDP pode ser inativada através da ligação às metalotioneínas, uma vez que quando há uma alta expressão das metalotioneínas I e II, o tratamento com cisplatina tende a ser ineficaz¹²¹. Isto deve-se ao facto das metalotioneínas serem ricas em resíduos de cisteína contendo tiol, o que lhes confere uma alta capacidade de se ligarem à cisplatina, favorecendo a inativação do fármaco e aumento de resistência ao tratamento com CDDP¹²².

Hishikawa et al., de forma semelhante ao que foi anteriormente referido, comprovaram que o nível intracelular aumentado de metalotioneínas no carcinoma de células escamosas do esôfago é um determinante crucial para a resistência à cisplatina e pode ser um indicador de mau prognóstico. Os pacientes que apresentavam uma superexpressão de MT tinham uma taxa de sobrevivência de cerca de 26% quando comparada com os que apresentavam uma baixa expressão da proteína MT (56%). Observou-se que a cisplatina melhorou o prognóstico dos pacientes com tumores com baixa expressão de MT, enquanto que em tumores com expressão elevada de MT o impacto foi menor. Assim, sugere-se a possibilidade de modular a resistência à cisplatina no carcinoma esofágico espinocelular avançado com superexpressão de MT utilizando a propargilglicina, que inibe especificamente a síntese de MT¹²³.

7.3. Aumento da eficácia de mecanismos de reparação de danos no ADN

Um mecanismo de resistência bastante importante é o aumento da eficácia dos mecanismos de reparação de danos no ADN, sendo que estes danos causados pela cisplatina são principalmente reparados por duas formas, a reparação por excisão de nucleotídeos (NER) e a reparação de incompatibilidades (MMR).

Após a cisplatina se ligar ao ADN, o sistema NER é a principal forma de eliminar os danos do ADN causados pelo complexo. Este sistema NER, é responsável por remover os adutos ADN-cisplatina, sendo que numa primeira fase de reparação, as proteínas XPC/HHR23B reconhecem o ADN e, posteriormente, as cadeias são separadas por XPD e XPBhelicases, e a cadeia de ADN é dividida em ambos os lados do aduto por XPF/ERCC1 e Xpgendonucleases. Em seguida, são excisados cerca de 30 nucleótidos, incluindo o aduto, e a falha resultante é ocupada pela DNA polimerase. As células resistentes à cisplatina, quando apresentam uma alta expressão da proteína ERCC1 promovem a melhoria da reparação dos danos no ADN provocados pelo fármaco. Adicionalmente, as células com superexpressão de NER apresentam uma menor sensibilidade à cisplatina^{124,125}.

Segundo Olauseen et al., a proteína ERCC1 é um determinante para a sensibilidade das células de cancro do pulmão de não pequenas células (CPNPC) à cisplatina. Observou-se que num estudo com 761 pacientes com cancro do pulmão, a maioria dos doentes que apresentavam uma baixa expressão de ERCC1, obtiveram melhores resultados com o tratamento com cisplatina aumentando consideravelmente a sobrevivência dos doentes. Por outro lado, os doentes que tinham uma elevada expressão de ERCC1, não obtiveram nenhum benefício significativo com o tratamento. Os resultados demonstram que o grupo de pacientes com tumores ERCC1-negativos apresentaram um risco de morte reduzido em 35%. Em contrapartida, o risco letal para pacientes com tumores ERCC1-positivos que receberam quimioterapia adjuvante à base de cisplatina era superior (Figura 20)¹²⁶.

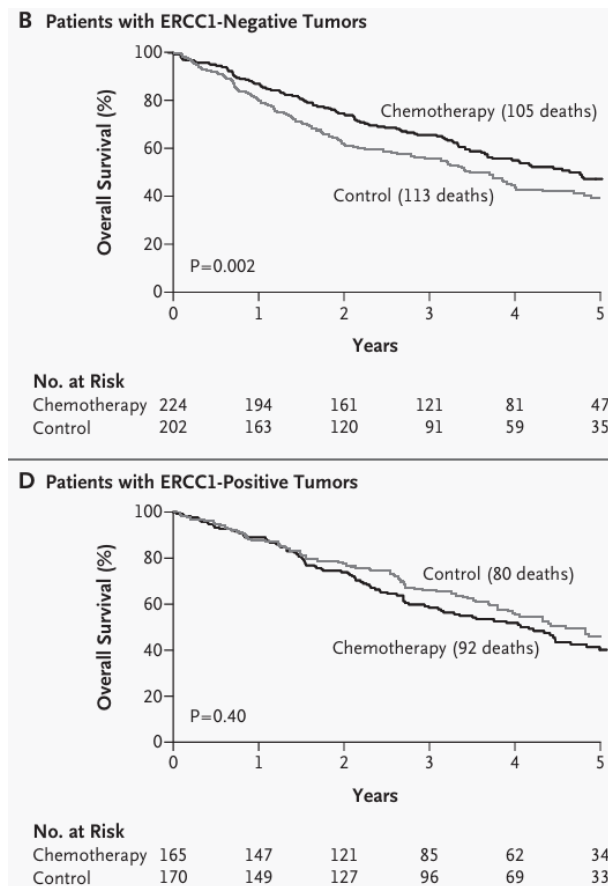


Figura 20- O Painel B mostra a sobrevivência global de acordo com o tratamento em pacientes com tumores ERCC1-negativos. O Painel D mostra a sobrevivência global de acordo com o tratamento em pacientes com tumores ERCC1-positivos¹²⁶.

De modo semelhante ao estudo anteriormente referido, Metzger et al. demonstraram que os doentes com adenocarcinoma gástrico com níveis inferiores de ERCC1 apresentavam um maior benefício de tratamento com cisplatina, em comparação com os que superexpressavam a proteína ERCC1¹²⁷.

O mecanismo MMR é crucial para a reparação de danos no ADN causados pela cisplatina, sendo responsável pela correção de erros numa cadeia de ADN tais como, “mismatches”, inserções ou deleções de bases durante a replicação. Porém, este processo só é capaz de substituir a base oposta ao aduto ADN-cisplatina, não conseguindo eliminar totalmente os danos, o que leva ao começo de novamente todo o mecanismo, podendo eventualmente resultar numa quebra de cadeia dupla no ADN, ativação de proteínas de sinalização de danos, entre elas a p53 e, conseqüentemente, à ativação do processo de apoptose¹²⁸.

O mecanismo mais frequente para a deficiência de MMR é a hipermetilação da região CpG do promotor do gene MLH1 em ambos os alelos. Nas células com deficiência em MMR, os nucleótidos não emparelhados acumulam-se gerando uma instabilidade de microssatélites. Gifford et al. comprovaram que a hipermetilação dos genes MMR no promotor aumenta efetivamente após o tratamento com cisplatina, contribuindo para o desenvolvimento de resistência ao fármaco. Observou-se que a metilação de hMLH1 encontrava-se aumentada quando havia uma progressão da doença, sendo que 25% das amostras de recaída apresentavam metilação que não era detetada previamente ao tratamento estando também associada a uma menor sobrevivência global dos doentes com cancro dos ovários¹²⁹. Adicionalmente, Plum et al. demonstraram que a resistência à cisplatina dos xenotransplantes de células tumorais de cancro do ovário ou cólon humano em animais, neste caso ratos nude, que apresentam hipermetilação no promotor do gene MLH1, pode ser ultrapassada através da inoculação das células com o agente desmetilante 2'-desoxi-5-azacitidina (DAC)¹³⁰.

7.4. Inibição de processos de apoptose

Um dos mecanismos de resistência à cisplatina que as células cancerígenas desenvolveram é a inibição de processos de apoptose induzidos pelo fármaco. As células tumorais resistentes ao complexo de 1ª geração, permanecem vivas devido à superexpressão da proteína antiapoptótica BCL-2, proteína esta que previne apoptose, resultando na diminuição da proporção de outra proteína, BAX, que normalmente auxilia na morte celular. Para além disso, células que não respondem ao fármaco frequentemente possuem altos níveis das proteínas survivina e XIAP, pertencentes a uma família de proteínas inibidoras de apoptose, que bloqueiam a ativação das caspases, nomeadamente a 3, 8 e a 9, impedindo que a cisplatina provoque morte celular. Desta forma, o tratamento com cisplatina é menos eficaz, uma vez que o fármaco não consegue induzir apoptose^{122,131}.

Foi observado por Nomura et al. que a superexpressão de IAP-2, XIAP e survivina podem ser um fator crucial para a resistência adquirida à apoptose induzida por cisplatina em células de linha celular do cancro da próstata(LNCaP). Este fator pode influenciar o tratamento com cisplatina para as LNCaP comprometendo a sua eficácia e desenvolvendo resistência cruzada. É de notar que a baixa expressão de IAP é essencial para a indução da apoptose, podendo aumentar a sensibilização ao tratamento com cisplatina. Apesar da cisplatina diminuir a taxa de crescimento das sublinhagens de LNCaP de forma dependente da dose de fármaco, os efeitos anti-proliferativos foram consideravelmente menores nas sublinhagens de LNCaP, em comparação com as células LNCaP originais. As sublinhagens resistentes à cisplatina, LNCaP/C1, LNCaP/C2 e LNCaP/C3, apresentaram uma resistência ao fármaco 6.3, 9.1 e 22.3 vezes maior que as células LNCaP, respetivamente, sendo essa resistência associada a uma menor indução da morte celular programada (Figura 21)¹³².

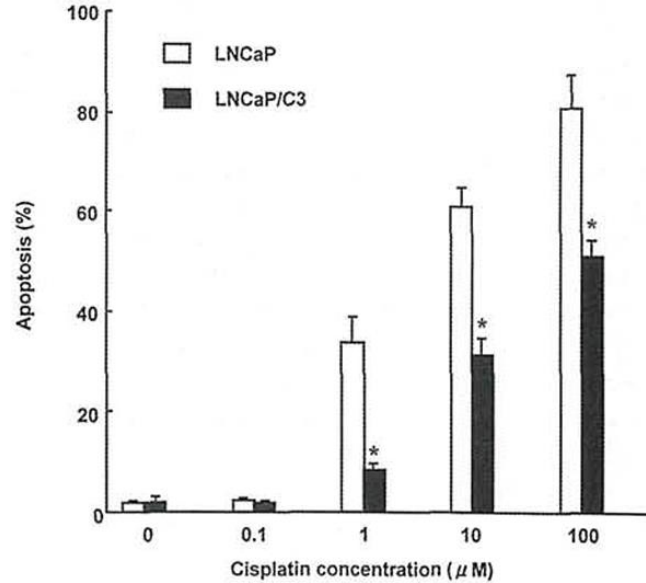


Figura 21-As sublinhagens de LNCaP foram expostas a cisplatina em diferentes concentrações (0,1, 1, 10 e 100 μM) por 48 horas, e as percentagens de células que passaram por apoptose foram registadas¹³².

A inibição de BCL-2 por ARN de cadeia curta (shRNA) ou pelo inibidor YC137, aumenta de forma sinérgica a sensibilidade à cisplatina em células do carcinoma nasofaríngeo com superexpressão de BCL-2. Low et al. verificaram ainda que o YC137 potencializa a apoptose induzida por cisplatina nas células HK1 e CNE1 do carcinoma nasofaríngeo através da diminuição da expressão de BCL-2, induzindo a despolarização mitocondrial e ativação da caspase 9 e das caspases 3/7. Isto sugere que o uso combinado de inibidores de BCL-2 e cisplatina possam constituir uma abordagem eficaz contra o carcinoma nasofaríngeo. Por outro lado, o inibidor YC137 de BCL-2 não demonstrou atividade inibitória ou sinérgica em linhas celulares no carcinoma nasofaríngeo, nomeadamente as células TW01 e SUNE1 que apresentam baixos níveis de BCL-2¹³³.

7.5. Alterações nos processos de autofagia

O processo de autofagia tem desempenhado um papel importante como um dos mecanismos de resistência da cisplatina. Este processo ocorre em células eucarióticas, quando estas se encontram em condições de deficiência de nutrientes ou stress, removendo as proteínas incorretamente dobradas, organelos disfuncionais ou resíduos celulares. Estes elementos são encapsulados por autofagossomas, estruturas vesiculares compostas por uma membrana lipídica dupla e, posteriormente, transportados para os lisossomas, onde são degradados. Os componentes resultantes podem ser reaproveitados pela célula¹³⁴.

Estas alterações nos mecanismos de morte celular nas células cancerígenas resistentes ao fármaco favorecem a sua sobrevivência através do stress celular, permitindo que a autofagia seja ativada no lugar da apoptose, o que contribui para a diminuição da eficácia da cisplatina¹³⁵.

A compreensão do mecanismo de efluxo de cisplatina mediado por exossomas em células cancerígenas é fundamental para o desenvolvimento de novas terapias contra a resistência à cisplatina. A produção de exossomas é um processo complexo, que envolve a formação de corpos multivesiculares (MVB) e vesículas intraluminais (ILV), o transporte dos MVBs até à membrana plasmática e, posteriormente, a fusão com a membrana. A secreção de exossomas é regulada por uma família de proteínas denominadas de SNARE, cuja proteína SNAP-23 pertencente a esta família, e tem como função induzir a fusão de MVBs com a membrana plasmática e promover a secreção de exossomas. Para além da SNAP-23, as proteínas VAMP8 e Stx4, também são responsáveis pelo processo de regulação da fusão da membrana e secreção exossomal. A ausência destes componentes impede a formação do complexo e, por sua vez impede a secreção de exossomas (Figura 22)¹³⁶.

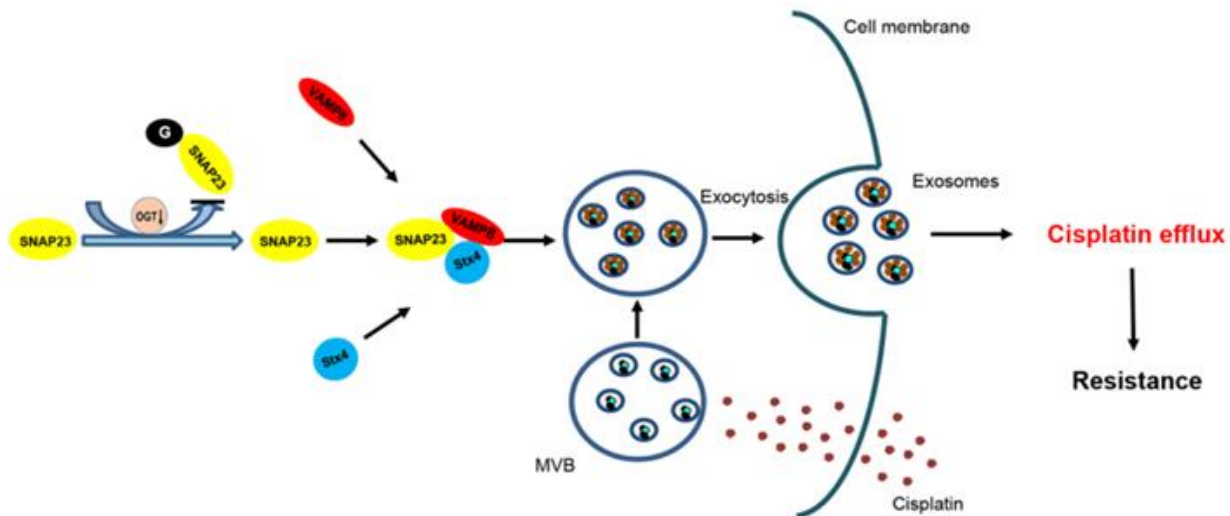


Figura 22- Representação esquemática da regulação negativa de OGT que promove a formação do complexo SNAP-23-Stx4-VAMP8 e a secreção de exossomas, aumentando assim o transporte de cisplatina intracelular e reduzindo a concentração intracelular de cisplatina, melhorando assim a resistência das células de cancro do ovário à cisplatina¹³⁶.

Qian et al. mostraram que a regulação negativa da enzima O-GlcNAc transferase (OGT) reduziu a O-GlcNAcilação de SNAP-23, promovendo a sua interação com as proteínas Stx4 e VAMP8, facilitando a formação do complexo SNARE, de modo a aumentar a fusão dos MVBs e, consequentemente, a secreção de exossomas. A regulação negativa da OGT não só promove a secreção de exossomas, como aumenta o efluxo de cisplatina intracelular, levando à diminuição da sua concentração nas células, o que contribui para a resistência ao tratamento no cancro dos ovários¹³⁶.

De forma semelhante ao estudo anterior, Zhou et al. sugerem que a regulação negativa da OGT aumenta a autofagia induzida pela cisplatina através da proteína SNAP-29, resultando num aumento da resistência à cisplatina no cancro dos ovários. A regulação negativa da enzima O-GlcNAc transferase (OGT) reduziu a O-GlcNAcilação de SNAP-29, promovendo a sua interação com as proteínas Stx17 e VAMP8. Esta interação induz a formação do complexo SNAP29-Stx17-VAMP8 e, consequentemente, a autofagia, contribuindo para a resistência à cisplatina¹³⁷.

7.6. Alterações na mitocôndria das células cancerígenas

As modificações na mitocôndria das células tumorais, como por exemplo variações no número de cópias de ADN mitocondrial, têm tido um grande impacto na resistência à cisplatina. Foi observado em células resistentes à cisplatina, um aumento significativo nas cópias de ADN mitocondrial, o que potencialmente conduz a uma elevada expressão de genes de enzimas antioxidantes, permitindo neutralização dos efeitos das espécies reativas de oxigénio, derivados da ação da cisplatina¹³⁸.

Frezza et al. verificaram que as células resistentes à cisplatina exibem uma superexpressão da proteína OPA-1, que está envolvida no processo de fusão mitocondrial, isto é, quando duas mitocôndrias se unem para formar uma única estrutura, intensificando a fusão mitocondrial comparativamente às células sensíveis à cisplatina. Deste modo, o processo de fusão mitocondrial permite manter o seu funcionamento adequado em condições de stress oxidativo e, consequentemente, permite a sobrevivência das células expostas à cisplatina¹³⁹.

Para além disso, as células tumorais apresentam uma diminuição da expressão da proteína DRP1, estando esta envolvida na fissão mitocondrial, que é o processo de divisão de uma mitocôndria em duas mitocôndrias que funcionam independentemente. Durante este processo, o citocromo c é libertado da mitocôndria ativando apoptose em fases posteriores. Desta forma, a inibição da fragmentação mitocondrial favorece a sobrevivência das células resistentes ao fármaco^{138,139}.

O processamento da L-Opa1, uma proteína de fusão mitocondrial no seu formato longo, é fundamental para a fissão mitocondrial e a subsequente apoptose. Deste modo, é importante compreender os mecanismos moleculares pelos quais a expressão e o processamento de L-Opa1 são regulados. A ativação da p53 na serina 15 é necessária para o processamento de L-Opa1 mediado por uma metalopeptidase mitocondrial (Oma1), induzida por cisplatina e para a fragmentação mitocondrial nas células cancerígenas ginecológicas¹⁴⁰.

Nas células quimiossensíveis, a CDDP induz a fosforilação da p53 (serina 15), que se transloca para as mitocôndrias e tem como alvo o complexo de Phb1 e Opa1. A fosfo-p53 (serina 15) liga-se a Phb1 e liberta Opa1. A CDDP também induz a ativação da Oma1 que processa a L-Opa1 e induz a fragmentação mitocondrial e a subsequente apoptose. Nas células quimiorresistentes, a fosforilação da p53 induzida pela CDDP é mínima ou inibida e, por conseguinte, estabiliza o complexo de Phb1 e Opa1. A ativação de Oma1 induzida por CDDP também é inibida. A L-Opa1 é protegida contra o processamento, o que leva a que a CDDP não induza a fragmentação mitocondrial e a apoptose (Figura 23) ¹⁴⁰.

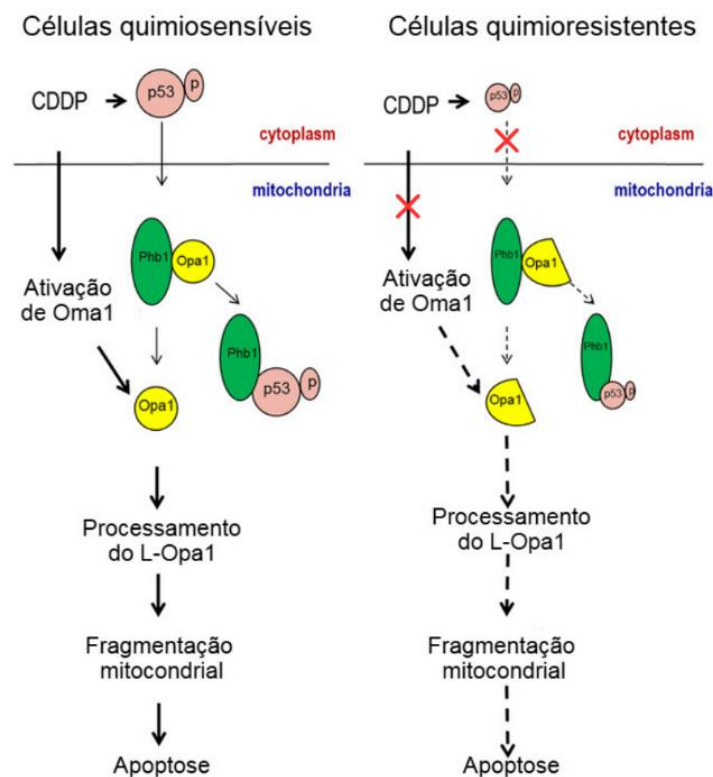


Figura 23- Ilustração do envolvimento de p53, Phb1, Oma1 e Opa1 na regulação da fragmentação mitocondrial, apoptose e quimiossensibilidade em células ginecológicas ¹⁴⁰.

De acordo com Kong et al., sugere-se que a p53 fosforilada (serina 15) induz a apoptose regulando a dinâmica mitocondrial, através da ligação competitiva à proteína Phb1, expondo a L-Opa1 às proteases responsáveis pelo seu processamento ¹⁴⁰.

7.7. Alterações no citoesqueleto das células cancerígenas

Recentemente foi descoberto um novo mecanismo nas células resistentes à cisplatina, que envolve alterações na dinâmica do citoesqueleto de actina. Este citoesqueleto de actina é uma estrutura responsável pela movimentação celular, pelo transporte intracelular e pela apoptose, sendo composto por filamentos de actina formados pelo entrelaçamento de dois filamentos de G-actina, que sofrem polimerização e despolimerização reversíveis durante as suas funções celulares. Os reguladores de organização e dinâmica do citoesqueleto de actina são principalmente as proteínas da família RHO, nomeadamente a RHOA, RHOB e RHOC^{141,142}.

As células resistentes à cisplatina apresentam diferenças significativas na maneira como o citoesqueleto de actina funciona comparativamente às células sensíveis. De forma geral, as células resistentes tendem a ser mais rígidas e possuem distúrbios relevantes no citoesqueleto. Uma possível razão seriam as alterações na expressão das proteínas RHO, havendo uma superexpressão das proteínas RHOA e RHOC e uma baixa expressão da proteína RHOB. Estas mudanças na expressão das proteínas mencionadas conduzem à depolimerização da actina F, comprometendo o seu funcionamento e o dos transportadores de membranas tais como, os canais aniônicos VSOR. Como resultado, há uma diminuição do influxo de cisplatina nas células e, conseqüentemente, contribui para a resistência ao tratamento¹⁴¹.

Como reguladores chave do citoesqueleto, as GTPases da sub-família Rho estão envolvidas em vários processos celulares. A RhoA e RhoC, tendencialmente promovem a progressão do cancro e a resistência à cisplatina, enquanto que a RhoB atua como um supressor tumoral e, deste modo aumenta a sensibilidade ao fármaco. A principal função da RhoA é a remodelação do citoesqueleto de actina, através do aumento da formação de fibras de stress e adesões focais que contribuem para a resistência aos fármacos. Guilluy et al. identificaram uma forte correlação entre rigidez celular, adesões focais e a atividade da RhoA^{142,143}.

Os inibidores da farnesiltransferase (FTIs) constituem uma classe de agentes quimioterapêuticos contra o cancro, ao inibir a farnesilação das GTPases Ras e a diminuição do seu crescimento, contribuindo para a sobrevivência das células cancerígenas. A RhoB pode ser tanto farnesilada quanto geranylgeranilada. Através do tratamento com FTIs, os níveis da forma

geranylgeranilada de RhoB aumentam resultando no seu posicionamento inadequado, que demonstrou ser necessário e suficiente para mediar os seus efeitos apoptóticos e antitumorais¹⁴².

Segundo Chatterjee et al., o tratamento de células de cancro da mama com o FTI L-744,832 diminui significativamente os níveis de RhoA ativo e aumentou os níveis de RhoC ativo. Estas alterações efetuadas pelos FTIs, sugerem que mecanismos envolvendo RhoA e RhoC podem contribuir para a sensibilização à cisplatina causada pelos FTIs¹⁴⁴.

A inibição da sinalização RhoA/ROCK, utilizando o inibidor da ROCK Y27632, aumentou a resposta apoptótica ao tratamento com cisplatina e fatores de necrose tumoral (TNF- α). Desta forma, evidenciou que a inativação de RhoA/ROCK provocada pelo TNF- α , desempenha um papel importante na apoptose. Estes fatores, reforçam a importância do citoesqueleto e da adesão celular na quimiorresistência. Sugere-se que RhoA, RhoB e RhoC desempenhem papéis diferentes na quimiorresistência à cisplatina. Enquanto RhoA e RhoC têm efeitos antiapoptóticos que promovem a quimiorresistência, RhoB apresenta um efeito proapoptótico que resulta na redução da quimiorresistência (Figura 24)¹⁴².

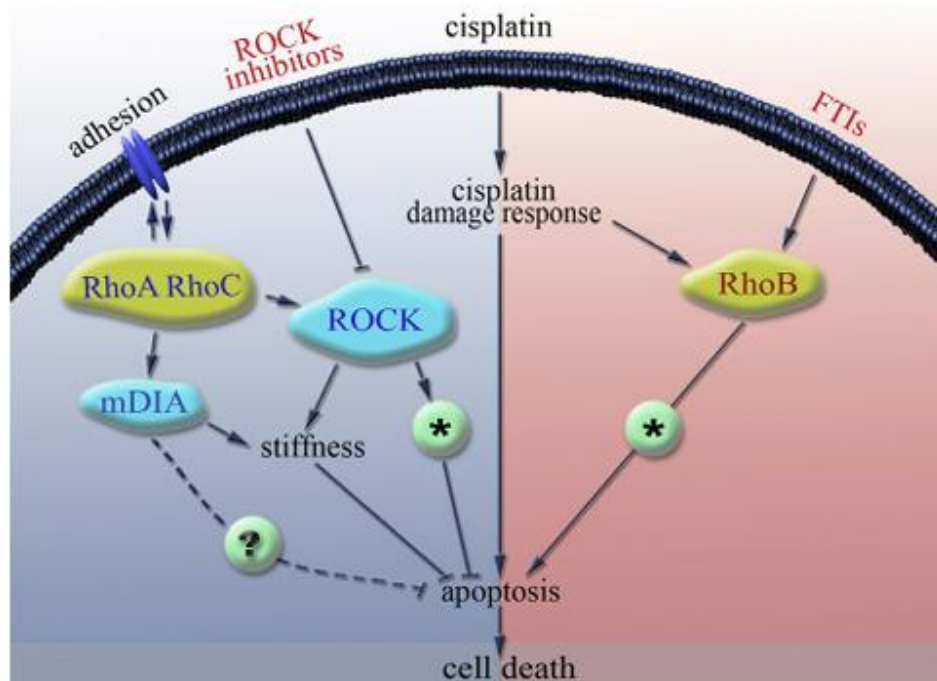


Figura 24- Resumo do envolvimento de RhoA, RhoB e RhoC nos mecanismos de resistência à cisplatina descritos no texto. As vias/efetores proapoptóticos e de redução da quimiorresistência estão assinalados a vermelho, enquanto as vias/efetores antiapoptóticos e de aumento da quimiorresistência estão marcados a azul. Setas pretas indicam ligações bem estabelecidas, enquanto setas pontilhadas indicam conexões especulativas. Os asteriscos representam proteínas ou vias putativas que medeiam o efeito das proteínas Rho na quimiorresistência¹⁴².

Wang et al. observaram que a expressão de RhoB teve um aumento significativo após o tratamento. Os ensaios imunohistoquímicos revelaram níveis elevados de RhoB em tecidos de pacientes que tiveram uma resposta insatisfatória à quimioterapia, em comparação com os que não foram tratados ou obtiveram uma boa resposta. A RhoB favorece o desenvolvimento e a progressão do cancro do colo do útero, sendo que a diminuição da sua expressão aumenta a sensibilidade das células cancerígenas à cisplatina. Deste modo, sugere-se que RhoB pode ser considerado como um alvo terapêutico no tratamento do cancro do colo do útero, assim como um marcador preditivo de resistência à cisplatina¹⁴⁵.

7.8. Alterações no microambiente tumoral

De modo a complementar os mecanismos de resistência desenvolvidos pelas células, as alterações no microambiente tumoral também contribuem para o desenvolvimento de resistência ao fármaco. As principais mudanças incluem uma elevada densidade de células cancerígenas ou modificações na matriz extracelular, como o seu aumento na rigidez, podendo limitar a penetração da cisplatina no tumor¹⁴⁶.

Um fator importante para a resistência ao complexo CDDP é o papel das células normais presentes no microambiente do tumor, tais como os fibroblastos associados ao carcinoma (CAFs) e os macrófagos associados ao tumor (TAMs). Estas células possuem a capacidade de inibir o efeito pró-apoptótico da cisplatina, através da secreção de proteínas (quimiocinas) e fatores de crescimento, que ativam processos que previnem a apoptose^{146,147}.

A quimiocina 22 com motivo C-C (CCL22) é libertada pelos TAMs no estroma das células do carcinoma espinocelular do esófago (ESCC), onde estimula a produção de ácido fosfatídico (PA) através da diacilglicerol quinase α (DGK α) intratumoral. Esta enzima, por sua vez suprime a atividade da NADPH oxidase 4 (NOX4) bloqueando a produção excessiva de espécies reativas de oxigénio (EROs) intratumoral induzida pela cisplatina. O CCL22 ativa o eixo DGK α / fator nuclear- κ B (NF- κ B), e desta forma regula positivamente o nível de transportadores da superfamília ABC, incluindo o membro 3,4 e 5 (ABCA3,ABCG4 e ABCA5 respetivamente), diminuindo a concentração de cisplatina intratumoral e contribuindo para a sua resistência nas células do ESCC (Figura 25)¹⁴⁸.

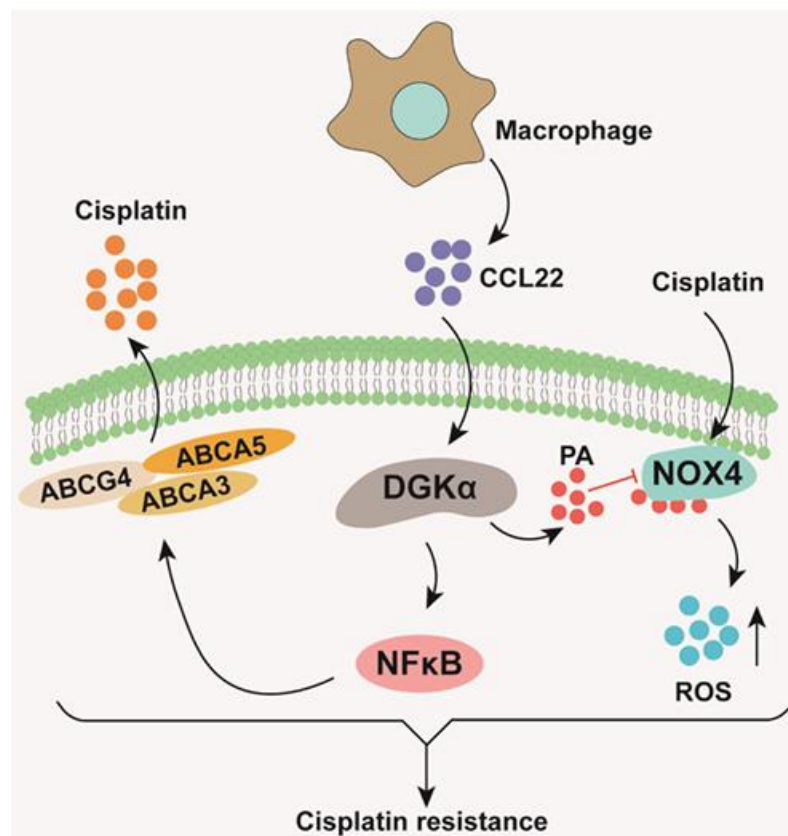


Figura 25-Modelo proposto de CCL22 que confere resistência à cisplatina das células cancerígenas através da regulação da DGK α /NOX4, o CCL22 estimula a DGK α para produzir PA, que suprime a atividade da NADPH oxidase 4 (NOX4) e bloqueia o excesso de produção excessiva de EROs intratumoral induzida pela cisplatina. O CCL22 também ativa a DGK α /NF- κ B para regular positivamente a expressão de ABCG4, ABCA3 e ABCA5, para diminuir a concentração intratumoral de cisplatina¹⁴⁸.

Chen et al. sugerem que DGK α atua como um alvo intratumoral útil para o desenvolvimento de agentes terapêuticos em combinação com quimioterapia, sendo que desempenha também um papel importante na interação entre o ESCC e o microambiente tumoral. Para além disso, observaram que a NOX4 e alguns transportadores ABC são fatores cruciais da DGK α , que promovem a resistência à cisplatina, em resposta ao CCL22 libertado pelos TAMs. Desta forma, o eixo CCL22/DGK α pode ser utilizado como alvo terapêutico para o tratamento adjuvante do ESCC. Adicionalmente, observou-se que a seleção de DGK α com ARN de pequena interferência conjugado com colesterol, aumentou significativamente a quimiossensibilidade da cisplatina no tratamento de ESCC¹⁴⁸.



Figura 26- Espectro de mecanismos de resistência à cisplatina³⁶.

8. Estratégias para minimizar a toxicidade dos fármacos de platina

Efetuar-se ao longo dos anos vários estudos que abordavam as limitações relativamente aos fármacos de primeira linha de platina, devido à sua toxicidade e efeitos indesejáveis e, por esse motivo, desenvolveram-se algumas estratégias com objetivo de melhorar a eficácia, reduzindo simultaneamente a toxicidade¹⁴⁹. Entre estas estratégias está a bioconjugação de substâncias-alvo, os nanomateriais como transportadores de fármacos, bem como a sua aplicabilidade, e a lipoplatina⁸.

8.1. Bioconjugação de substâncias-alvo

A bioconjugação de substâncias-alvo tem como objetivo integrar a componente molecular, que tem como alvo as células cancerígenas, nos pró-fármacos de Pt(IV), de modo a melhorar o efeito citotóxico dos fármacos à base de platina nas células tumorais. Os sistemas de administração de fármacos baseados em péptidos permitem melhorar as propriedades de direcionamento do fármaco e diminuir significativamente os efeitos indesejáveis, devido à bioatividade e baixa resposta imunitária dos péptidos, que são especificamente expressos nas membranas das células tumorais⁸.

Os complexos de Pt(II) são normalmente utilizados no tratamento de tumores malignos, enquanto que os complexos de Pt(IV) surgem como promissores pró-fármacos de Pt(II), ativados por redução nas células tumorais com o objetivo de reduzir os efeitos indesejáveis e melhorar as propriedades farmacológicas. Enquanto que os complexos de Pt(II) apresentam uma geometria quadrangular plana e quatro ligandos, os complexos de Pt(IV) possuem uma geometria octaédrica e seis ligandos. A fácil modificação dos ligandos axiais nestes últimos complexos permite aumentar bastante o seu potencial terapêutico, quer incorporando moléculas com propriedades de direcionamento para determinadas estruturas quer incorporando moléculas com atividade biológica. Por outro lado, sendo os complexos de Pt(IV) cineticamente mais inertes do que os complexos de Pt(II), são menos propensos a reações de substituição de ligandos e, em contrapartida apresentam menos efeitos indesejáveis (Figura 27)¹⁵⁰. É aceite que estes complexos sofrem redução no interior das células, sendo mais favorável essa redução em ambientes com pouco oxigénio. Dado que a geometria octaédrica não é compatível com o centro metálico no estado de oxidação 2, são assim libertados os dois ligandos axiais que podem ou não ter ação terapêutica, bem como o complexo ativo de Pt(II) de geometria quadrangular plana.

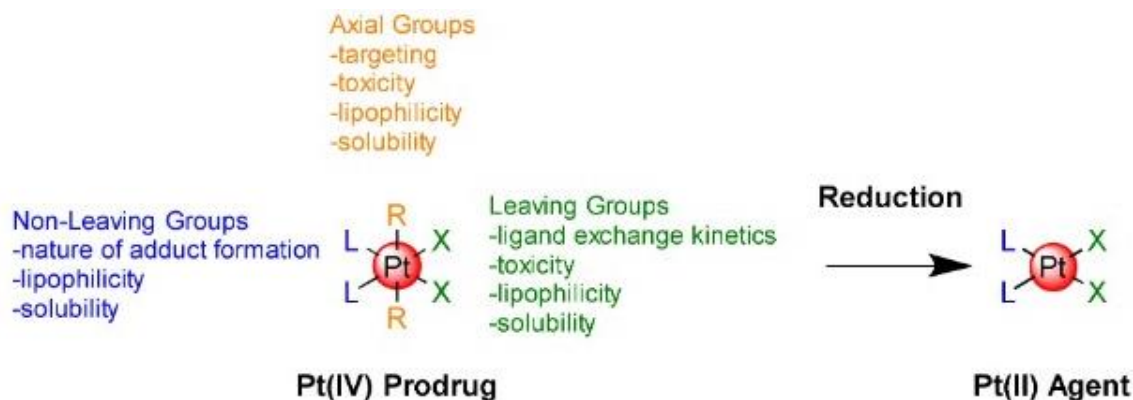


Figura 27-Redução de pró-fármacos de Pt(IV) em espécies de Pt(II) terapeuticamente ativas¹⁵⁰.

As sequências de péptidos que possuem a capacidade de reconhecimento de proteínas superexpressas ou outros recetores podem ser introduzidos em pró-fármacos de Pt(IV), de modo alcançar a função-alvo desejada. Para além disso, estas sequências polipeptídicas podem desempenhar funções de seleção distintas⁸.

As integrinas regulam processos de adesão célula-célula e estão superexpressas nas membranas das células tumorais, desempenhando um papel crucial na progressão do cancro. O tripeptídeo arginina-glicina-aspártico (RGD) é capaz de reconhecer a integrina $\alpha\beta3$ que se encontra superexpressa nas células cancerígenas. Yuan et al. sintetizaram e avaliaram biologicamente um pró-fármaco de Pt(IV), cujas duas posições axiais foram funcionalizadas com o tripeptídeo cíclico RGD, com o objetivo de interagir especificamente com células tumorais, que têm elevada expressão da integrina $\alpha\beta3$, e um péptido Asp-Glu-Val-Asp (DEVD) específico para a enzima caspase-3. Esta integrina é caracterizada por ser um sensor de apoptose composto por fluoróforo tetrafenilsilole (TPS) com características de emissão induzida por agregação (AIE). O pró-fármaco de Pt(IV) em estudo, pode ligar-se seletivamente à integrina $\alpha\beta3$ superexpressa nas células tumorais, de modo a facilitar a captação celular. Para além disso, o pró-fármaco é reduzido à sua forma ativa, Pt(II), sendo posteriormente libertado pelo sensor de apoptose TPS-DEVD. O fármaco de Pt(II), pode induzir apoptose celular e ativar a enzima caspase-3 para clivar a sequência peptídica DEVD, que gera o resíduo TPS hidrofóbico, cujas rotações intramoleculares dos anéis fenil ficaram restritas devido à sua agregação, levando ao aumento da fluorescência. Deste modo, este design de pró-fármaco sugere uma administração de fármacos à base de platina às células mais eficiente (Figura 28)¹⁵¹.

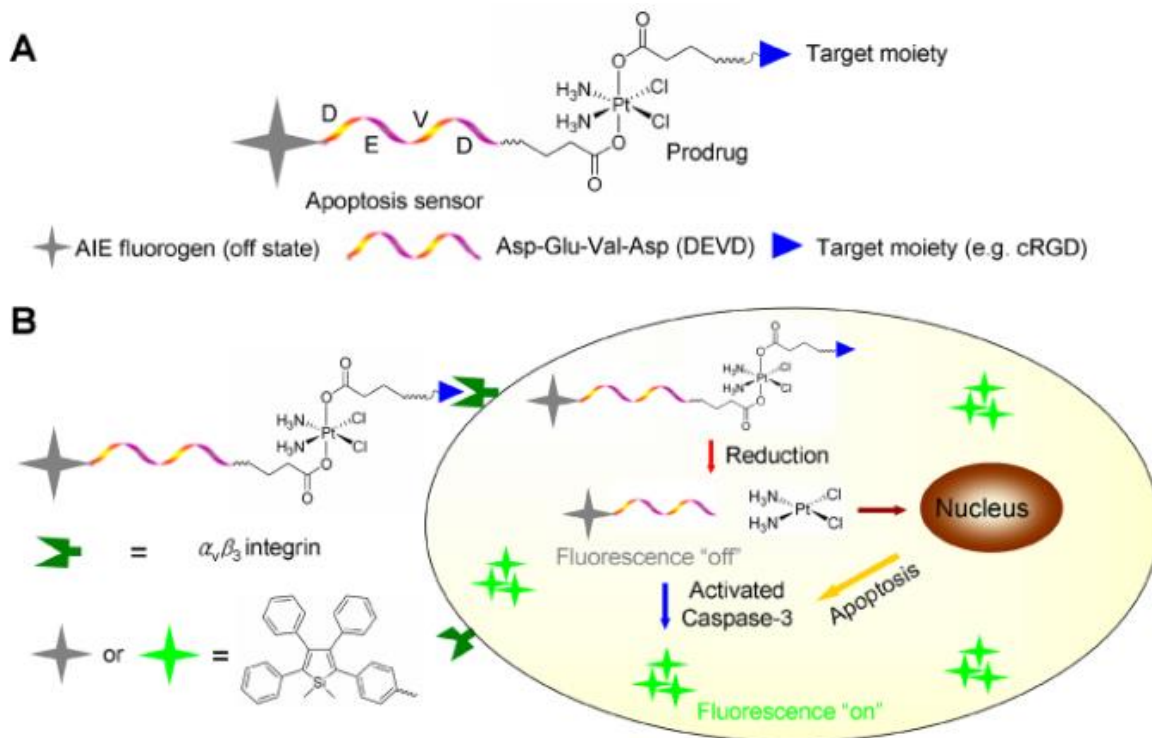


Figura 28- Ilustração esquemática do pró-fármaco de platina(IV) com um sensor de apoptose induzido por agregação (AIE) incorporado para avaliação precoce in situ não invasiva das suas respostas terapêuticas¹⁵¹.

8.2. Nanomateriais como transportadores de fármacos

8.2.1. Nanoclusters de Au (GNCs) como transportadores de fármaco

Ao longo dos anos, os sistemas de administração de fármacos de platina que se baseavam em nano-transportadores vieram a demonstrar ser uma alternativa promissora, incluindo os GNCs, devido à sua elevada fotoestabilidade, solubilidade em água e biocompatibilidade¹⁵².

Comparativamente com as nanopartículas tradicionais, as partículas das GNCs apresentam geralmente um tamanho inferior a 2 nanómetros (nm) o que contribui para que o tempo no sangue seja mais longo. Os complexos de platina podem ser transportados através das GNCs com uma acumulação preferencial nos tecidos tumorais pelo efeito de permeação e retenção otimizadas (EPR), permitindo que haja uma melhor eficácia terapêutica e uma menor toxicidade associada^{153,154}.

Segundo Zhou et al, foram utilizadas as GNCs protegidas com BSA como uma nanoplataforma de dupla função destinada à administração de fármacos e a imagiologia fluorescente do cancro. Primeiramente, os GNCs foram acopladas a um pró-fármaco cis,cis,trans[Pt(NH₃)₂Cl₂(OH)(O₂CCH₂CH₂CO₂H)] (MDDP), fármaco este que se destaca por ser uma forma de cisplatina mais seletiva e menos tóxica sendo por esse motivo, mais sensível a processos de redução. Em seguida, foram funcionalizados com ácido fólico, um ligando que direciona as nanopartículas para as células cancerígenas que superexpressam o recetor de folato α (Figura 29)¹⁵⁵.

Utilizando as células 4T1, que consiste numa linhagem celular de cancro da mama agressivo, comprovaram que havia uma acumulação seletiva do pró-fármaco juntamente com as GNCs conjugadas com ácido fólico no interior das células cancerígenas. Deste modo, as nanopartículas são capazes de prevenir o crescimento do tumor primário e as metastases¹⁵⁶.

Adicionalmente, a BSA utilizada na síntese das nanopartículas pode ser substituída por albumina humana sem que afete as suas propriedades físico-químicas. O complexo FA-GNC-Pt que é formado, apresenta um diâmetro de cerca de 10nm, permitindo a sua fuga do sistema reticuloendotelial no fígado, sendo rapidamente eliminado pelos rins. Assim, é evitada a sua acumulação no fígado e são minimizados os efeitos adversos¹⁵⁶.

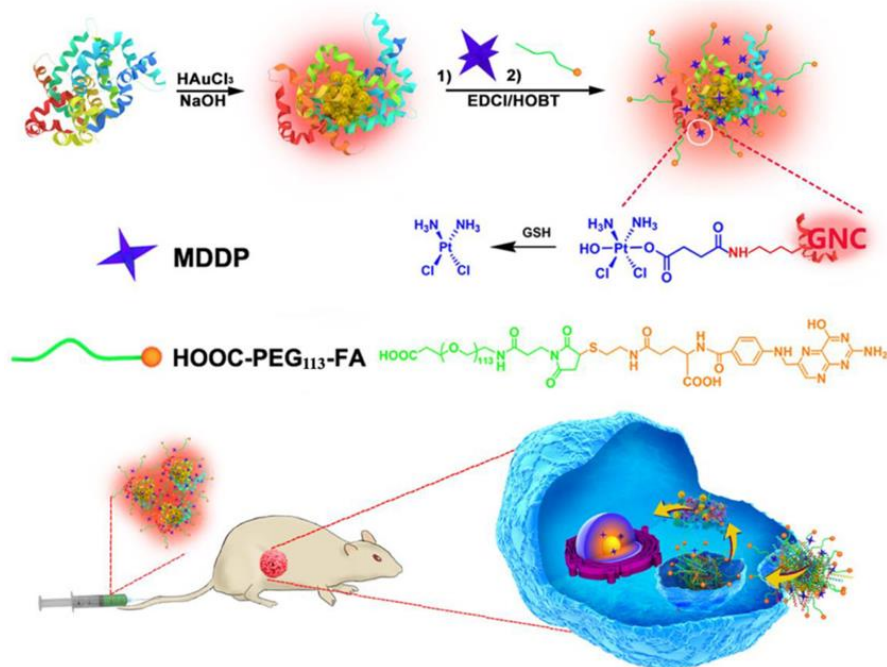


Figura 29- Ilustração esquematizada da nanoplateforma baseada em GNC para quimioterapia dirigida a tumores e imagiologia por fluorescência¹⁵⁵.

Brown et al. ligaram o componente ativo da oxaliplatina a nanopartículas de ouro (AuNPs) funcionalizadas com uma monocamada de polietilenoglicol (PEG) tiolado revestida com grupos carboxilato terminais (Figura 32), com o objetivo de otimizar a sua administração. O fármaco demonstrou uma citotoxicidade aproximadamente seis vezes superior à oxaliplatina contra células epiteliais de cancro do pulmão A549 ($IC_{50}=0,135\mu M$ vs $IC_{50}=0,775\mu M$, respetivamente) e em várias linhas celulares do cancro do cólon (HCT116, HCT15, HT29, e RKO). Para além disso, as AuNPs apresentaram uma capacidade surpreendente de penetrar no núcleo das células pulmonares cancerígenas (Figura 30)¹⁵⁷.

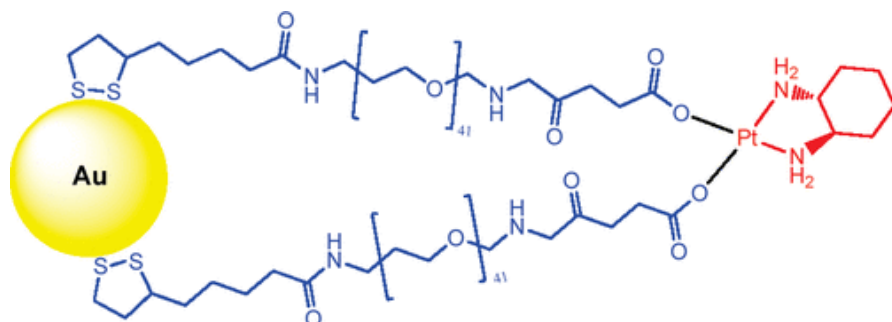


Figura 30- Estrutura do fármaco preparado por Brown et al., envolvendo a conjugação da platina a nanopartículas de ouro¹⁵⁷.

8.2.2. Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro como transportadores de fármaco

As SPIONs, ou nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro, são frequentemente utilizadas para administração direcionada devido às suas vantagens, como baixa toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e boa dispersão em água. Estas nanopartículas podem estabelecer uma ligação com fármacos e serem direcionadas para os tecidos de interesse ou tumores utilizando um campo magnético externo.

Guo et al. sintetizaram nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro revestidas com carboximetilcelulose, cujo o grupo carboxilato foi, posteriormente, quelatado com cisplatina. Este conjugado entra mais facilmente nas células cancerígenas comparativamente à cisplatina, exercendo uma maior citotoxicidade nas células HeLa do cancro cervical e nas células HepG2 do hepatocarcinoma. Neste estudo, os SPIONs foram modificados com carboximetilcelulose sódica (CMC-SPMNCs), sendo utilizados como nanotransportadores para a administração de fármacos à base de platina. Os SPIONs têm a vantagem de aumentar a magnetização de forma controlável, mantendo as características superparamagnéticas do óxido de ferro. A carboximetilcelulose sódica (CMC-Na) foi selecionada por ser um polímero biocompatível e biodegradável, e possuir elevado número de grupos carboxilato que podem se coordenar com íons de ferro ou ligar-se a fragmentos de platina. O farmacóforo de platina, [cis-monoclorodiaminoplatina(II), CMDP], foi transportado nos aglomerados ao reagir com os grupos carboxilato na superfície das partículas, formando um conjugado magnético CMDP-CMC-SPMNC. Este conjugado apresenta um efeito citostático superior contra as células cancerígenas comparativamente à cisplatina (Figura 31)¹⁵⁸.

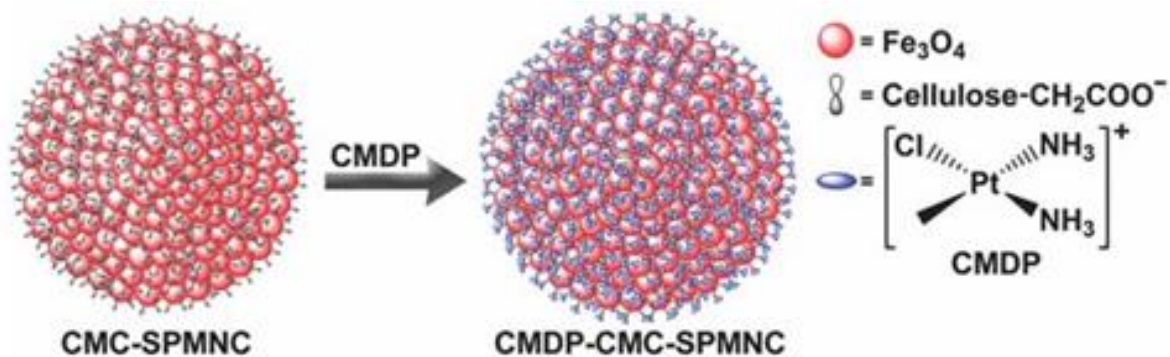


Figura 31- Processo de formação do conjugado CMDP-CMC-SPMNC⁴⁶.

8.3. Nanoclusters de platina (Pt NCs) como nova terapia

Os nanoclusters de platina (Pt NCs), à semelhança dos GNCs, são agregados moleculares relativamente estáveis compostos por até centenas de átomos de metal. Os Pt NCs podem ser compostos por um único metal, no entanto é mais comum a sua agregação com outros metais, tais como Fe e Co, de modo a melhorar as propriedades físico-químicas¹⁵⁹. Devido à sua composição e ao perfil de segurança biológica favorável que apresentam, os Pt NCs mostram grande potencial para o uso no tratamento do cancro⁸.

O mecanismo de citotoxicidade das Pt NCs ainda não está bem definido, devido às diferenças no tamanho, forma, revestimentos de superfície e na pureza das partículas. Porém, sugere-se que a citotoxicidade dos Pt NCs depende da libertação de iões de Pt^{2+} em condições de pH baixo, como ocorre nos endossomas celulares, o que contribui para danos do ADN¹⁶⁰.

8.3.1. Aplicação de Nanoclusters de platina (Pt NCs)

Segundo Gao et al. os nanoclusters de FePt-CoS₂ do tipo “Yolk-shell”, consistem num núcleo FePt (a gema) revestido por uma camada de CoS₂ (a casca). Estes Pt NCs sintetizados apresentaram uma concentração inibitória de 50% (IC₅₀) de 35,5 nanogramas por mililitro (ng/mL), que corresponde a 4,7 ng/mL de platina, em células HeLa, enquanto a cisplatina apresentou uma IC₅₀ superior de 230 ng/mL de platina. A oxidação de nanoclusters de FePt leva à formação de íões de Pt²⁺ e Fe³⁺, especialmente em lisossomas tardios intracelulares com um ambiente com pH inferior a 5,5, uma vez que foram encontradas nanoesferas ocas nas mitocôndrias das células cancerígenas, sugerindo a decomposição do núcleo de FePt. Desta forma, após absorção celular, os núcleos de FePt desintegram-se, libertando íões metálicos no ambiente ácido dos lisossomas secundários. Em seguida, estes íões metálicos podem escapar dos endossomas e entrar no núcleo da célula para ligar-se ao ADN, levando à formação de adutos cisplatina-ADN, provocando apoptose das células tumorais. Para além disso, a análise por microscopia eletrónica de transmissão (TEM) confirmou a absorção celular dos nanoclusters FePt-CoS₂. Após a absorção celular, as nanopartículas de FePt são oxidadas, gerando íões Fe³⁺ e Pt²⁺. Os íões Pt²⁺ entram no núcleo (e nas mitocôndrias), ligam-se ao ADN e induzem a apoptose das células HeLa (Figura 32)

161.

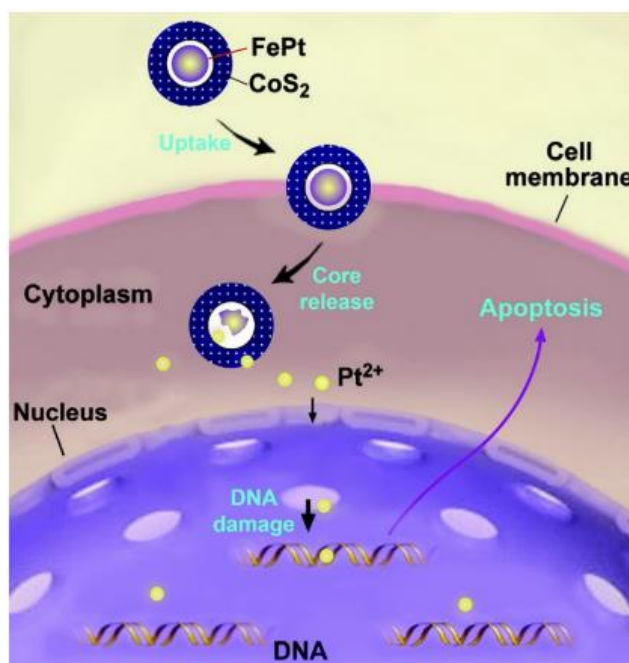


Figura 32- Ilustração de um possível mecanismo pelo qual os nanoclusters FePt-CoS₂ em forma de casca de ovo matam células HeLa ¹⁶¹.

8.4. Lipoplatina

A lipoplatina é constituída por nanopartículas baseadas na formação de micelas reversas entre a cisplatina e glicerofosfato de dipalmitoil (DPPG) sob condições especiais de pH, etanol, força iônica e outros parâmetros. Através da interação com lípidos neutros, as micelas reversas de cisplatina-DPPG são posteriormente convertidas em lipossomas¹⁶².

A molécula DPPG carregada negativamente na superfície confere às nanopartículas propriedades fusogênicas, que é uma característica essencial para a entrada através da barreira da membrana celular. Para além disso, devido ao seu tamanho pequeno e à menor integridade da parede dos vasos sanguíneos, contribui para o seu extravasamento passivo para os tumores, enquanto uma fagocitose mais intensa, característica das células cancerígenas, aumenta significativamente a captação intracelular e nuclear do fármaco. O seu revestimento com PEG confere ainda propriedades de longa circulação, permitindo que as nanopartículas se mantenham no sistema por mais tempo e aumentando a sua acumulação no tumor. O modelo apresentado na Figura 33 mostra a bicamada lipídica e as moléculas de cisplatina no seu lúmen (esferas amarelas) com as moléculas de PEG na sua superfície (estruturas vermelhas semelhantes a pêlos) que revestem a partícula com um polímero inerte hidrofílico o que lhe confere a capacidade de escapar à deteção dos macrófagos e à vigilância imunitária¹⁶².

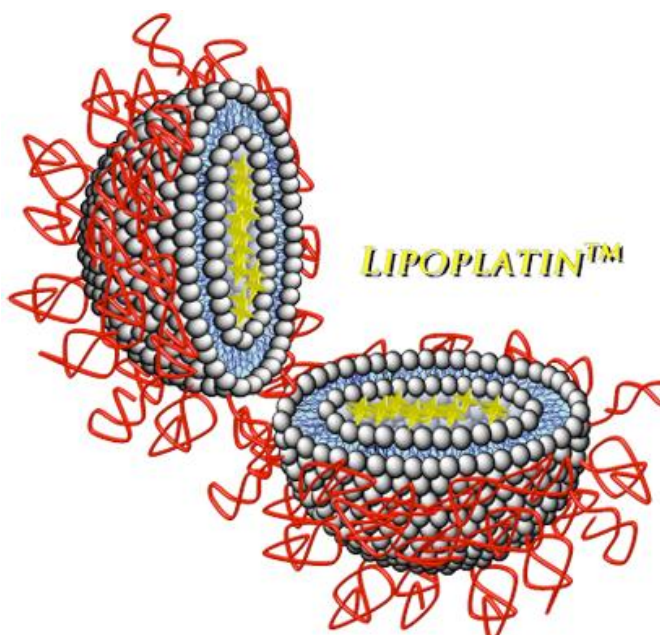


Figura 33- Estrutura de uma nanopartícula de lipoplatina^{50,162,163}.

Um fator crucial que contribui para a eficácia terapêutica da lipoplatina é a sua seletividade por tumores primários e metástases, causando danos significativos nos tecidos tumorais comparativamente com os tecidos normais. No desenvolvimento tumoral, a formação de novos vasos sanguíneos, conhecida como neoangiogênese, é necessária para garantir o fornecimento de nutrientes permitindo o crescimento e expansão do tumor. Para além disso, a captação da lipoplatina pelo tumor ocorre devido ao extravasamento preferencial das nanopartículas de lipossomas de 100 nm através das falhas presentes na vasculatura tumoral. As nanopartículas de lipoplatina evitam a vigilância imunológica devido ao seu revestimento com PEG e extravasam, preferencialmente, para tumores primários e metástases através do endotélio comprometido da sua vasculatura, devido ao seu pequeno tamanho (100 nm) e à sua longa circulação. Assim, as nanopartículas de lipoplatina podem atingir os tumores primários e as micrometástases, algo que foi demonstrado em estudos com animais e humanos. Além disso, foi proposto que as nanopartículas de lipoplatina podem ter como alvo o endotélio da vasculatura tumoral, induzindo apoptose, o que lhes confere propriedades antiangiogénicas (Figura 34)¹⁶³.

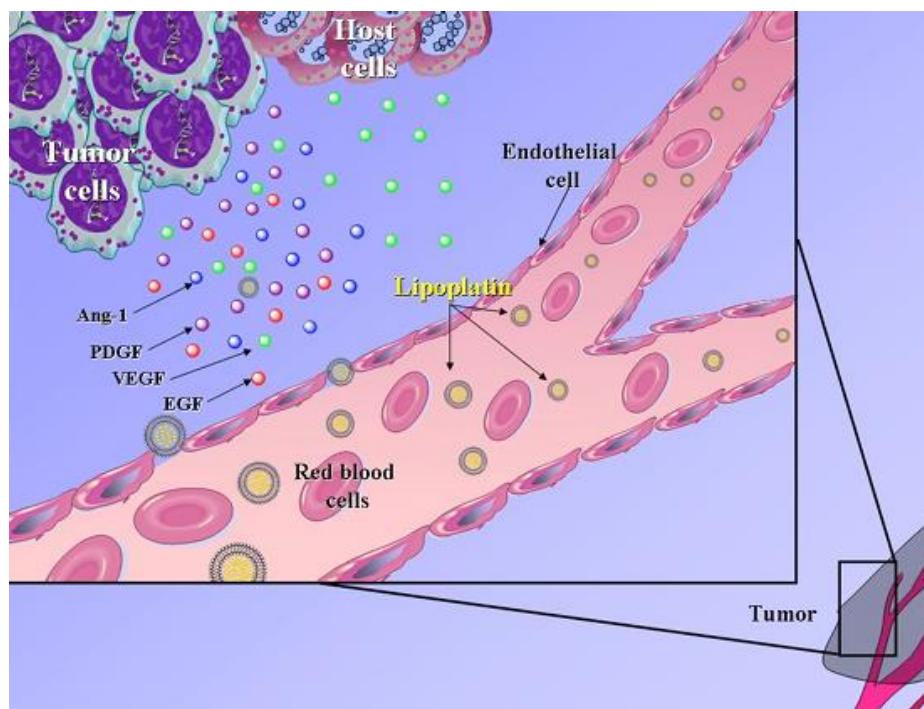


Figura 34- Ilustração do processo de extravasamento¹⁶³.

O endotélio das paredes vasculares, durante a angiogénese, apresenta falhas que requerem tempo para se desenvolverem por completo. Assim, as nanopartículas conseguem atravessar a parede vascular comprometida afetando o tumor. Uma vez dentro da célula, a lipoplatina transporta as nanopartículas para o interior das células tumorais, induzindo sinalização e danos no ADN. A ativação das vias de sinalização pela cisplatina e pela lipoplatina inclui a mitocondrial, danos no ADN, ERK, PI3K/AKT1 e o recetor de morte, levando à ativação das caspases e à apoptose. No entanto, foi proposto que a Lipoplatina seja captada por fagocitose pelas células tumorais e por fusão direta dos lipossomas com a membrana celular devido ao lípido fusogénico DPPG na sua bicamada. Enquanto o CTR1, o principal transportador de entrada de cobre, importa a cisplatina e a sua saída é regulada, pelo menos, por dois transportadores de efluxo de cobre, ATP7A e ATP7B, foi sugerido que a Lipoplatina contorne este processo. Assim, a Lipoplatina pode ter aplicações em pacientes previamente tratados com fármacos à base de platina que desenvolveram tumores resistentes (Figura 35)¹⁶³.

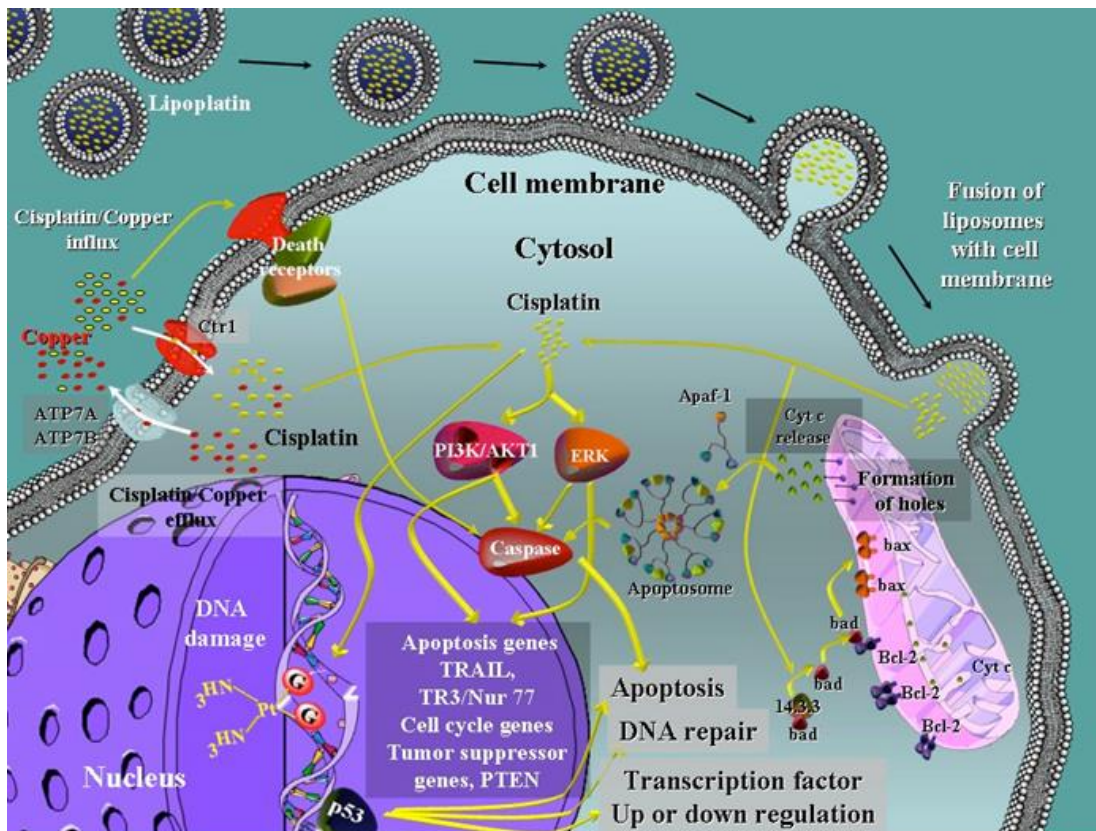


Figura 35- Mecanismo de ação através da ativação das vias de sinalização pela cisplatina e pela Lipoplatina¹⁶⁴.

Embora os estudos clínicos de Fase II e III tenham demonstrado alguma eficácia em determinados tipos de cancro, como CPNPC e o carcinoma escamoso da cabeça e do pescoço, os resultados apresentados não justificaram, até ao momento, a sua aprovação. Ravaioli et al. realizaram uma avaliação da eficácia da lipoplatina em células do CPNPC e verificaram que, a taxa de remissão parcial era de apenas 5%, não suportando assim que a lipoplatina avançasse para Fase III¹⁶⁴.

9. Conclusão

Os fármacos de platina no tratamento oncológico têm demonstrado resultados muito bons ao longo dos anos, no entanto ainda existem desafios inerentes relativos aos mecanismos de resistência desenvolvidos pelos tumores, o que tem limitado nalguns casos a sua eficácia clínica. É importante compreender os diferentes mecanismos de resistência, que incluem alterações na captação e transporte do fármaco, ou mudanças na reparação de ADN e apoptose, de modo a desenvolver estratégias terapêuticas mais eficazes.

Os estudos realizados sobre a resistência aos fármacos de platina são cruciais para melhorar o prognóstico dos doentes e desta forma, maximizar os benefícios destes complexos. As novas abordagens, como seja a aplicação de nanopartículas, têm vindo a demonstrar um grande potencial em ultrapassar esta barreira que dificulta ação dos fármacos, permitindo uma administração direcionada e, portanto, mais eficiente. Estas estratégias têm como objetivo não só a melhoria da eficácia clínica, mas também a minimização dos efeitos adversos, permitindo uma distribuição mais seletiva do fármaco nas células dos tecidos tumorais.

Deste modo, uma maior compreensão e investigação dos mecanismos de resistência aos fármacos de platina, assim como o desenvolvimentos de métodos inovadores, será determinante para o avanço da terapêutica oncológica. A inovação contínua nesta área é imprescindível para melhorar a eficácia clínica de fármacos que já provaram a sua utilidade, melhorando desse modo a qualidade de vida dos pacientes e as perspectivas de um tratamento favorável.

10. Referências bibliográficas

1. 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* 39, 8113–27 (2010).
2. Hoeschele, J. D. Dr. Barnett Rosenberg—a personal perspective. *Dalton Transactions*, 45, 12966–69 (2016).
3. Wong, E. & Giandornenico, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chemical Reviews* 99, 2451–66 (1999).
4. Stewart, D. J. Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 63, 12–31(2007).
5. Makovec, T. Cisplatin and beyond: Molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. *Radiology and Oncology*, 53, 148–58 (2019).
6. Zhou, J., Kang, Y., Chen, L., Wang, H., Liu, J., Zeng, S. & Yu, L. The drug-resistance mechanisms of five platinum-based antitumor agents. *Frontiers in Pharmacology*, 11 (2020).
7. Florea, A. M. & Büsselberg, D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers*, 3, 1351–71 (2011).
8. Zhang, C., Xu, C., Gao, X. & Yao, Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*, 12, 2115–32 (2022).
9. Sudhakar, A. History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 01, 1–4 (2009).
10. Compton, Carolyn C. Cancer : The enemy from within ; a comprehensive textbook of cancer's causes, complexities and consequences. *Springer Nature*, ISBN 9783030406516 (2020)
11. What is Cancer? [Internet] Cancer Council NSW. [Acedido em 2024 abr 21] Disponível em: <https://www.cancercouncil.com.au/cancer-information/understanding-cancer/what-is-cancer/>.
12. Yin, W., Wang, J., Jiang, L. & James Kang, Y. Cancer and stem cells. *Experimental Biology and Medicine*, 246, 1791–1801 (2021).
13. Faubert, B., Solmonson, A. & DeBerardinis, R. J. Metabolic reprogramming and cancer progression. *Science*, 368 (2020).

14. Roy, P. S. & Saikia, B. J. Cancer and cure: a critical analysis. *Indian Journal of Cancer*, 53, 441–2 (2016).
15. Majidpoor, J. & Mortezaee, K. Steps in metastasis: an updated review. *Medical Oncology*, 38 (2021).
16. Khan, S. U., Fatima, K., Malik, F., Kalkavan, H. & Wani, A. Cancer metastasis: molecular mechanisms and clinical perspectives. *Pharmacology and Therapeutics*, 250 (2023).
17. Vogelstein, B. & Kinzler, K. W. Cancer genes and the pathways they control. *Nature Medicine*, 10, 789–99 (2004).
18. Oncogenes, Tumor Suppressor Genes, and DNA Repair Genes [Internet] American Cancer Society. [Acedido em 2024 mai 13] Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/understanding-cancer/genes-and-cancer/oncogenes-tumor-suppressor-genes.html>.
19. Fanale, D., Maragliano, R., Bazan, V. & Russo, A. Caretakers and Gatekeepers. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1–10 (2017).
20. Van Heemst, D., den Reijer, P. M. & Westendorp, R. G. J. Ageing or cancer: A review. On the role of caretakers and gatekeepers. *European Journal of Cancer*, 43, 2144–52 (2007).
21. Russo, A., Migliavacca, M., Zanna, I., Macaluso, M., Gebbia, N. and Bazan, V. Caretakers and Gatekeepers. *Encyclopedia of Life Sciences* (2006).
22. Patel, A. Benign vs Malignant Tumors. *JAMA Oncology*, 6 (2020).
23. Whelan S. Benign vs Malignant Tumors. *Technology Networks* (2022).
24. What Is Cancer? [Internet] NCI. [Acedido em 2024 mar 30] Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
25. Blastoma: Types, Symptoms, and Treatments. [Internet] Healthline [Acedido em 2024 mar 30] Disponível em: <https://www.healthline.com/health/blastoma>.
26. Boutry, J., Tissot, S., Ujvari, B., Capp, J. P., Giraudeau, M., Nedelcu, A. M., Thomas, F. The evolution and ecology of benign tumors. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1877 (2022).
27. Cancer Today. [Internet] World Health Organization [Acedido em 2024 abr 21] Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps-most-common-sites?mode=cancer&key=total&types=1>.
28. Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E. & Jemal, A. Cancer statistics, 2022. *A Cancer Journal for Clinicians*, 72, 7–33 (2022).

29. De Vries, G., Rosas-Plaza, X., van Vugt, M. A. T. M., Gietema, J. A. & de Jong, S. Testicular cancer: determinants of cisplatin sensitivity and novel therapeutic opportunities. *Cancer Treatment Reviews*, 88 (2020).
30. Gong, X., An, Z., Wang, Y., Guan, L., Fang, W., Strömblad, S., Jiang, Y., Zhang, H. Kindlin-2 controls sensitivity of prostate cancer cells to cisplatin-induced cell death. *Cancer Letters*, 299, 54–62 (2010).
31. Usanova, S., Piée-Staffa, A., Sied, U., Thomale, J., Schneider, A., Kaina, B., Köberle, B. Cisplatin Sensitivity of Testis Tumour Cells Is Due to Deficiency in Interstrand-Crosslink Repair and Low ERCC1-XPF. *Molecular Cancer*, 9 (2010).
32. Koster, R., van Vugt, M. A., Timmer-Bosscha, H., Gietema, J. A. & de Jong, S. Unravelling mechanisms of cisplatin sensitivity and resistance in testicular cancer. *Expert reviews in molecular medicine*, 15 (2013).
33. Awuah, S. G., Riddell, I. A. & Lippard, S. J. Repair shielding of platinum-DNA lesions in testicular germ cell tumors by high-mobility group box protein 4 imparts cisplatin hypersensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114, 950–55 (2017).
34. Youlden, D. R., Cramb, S. M. & Baade, P. D. The international epidemiology of lung cancer geographical distribution and secular trends. *Journal of Thoracic Oncology*, 3, 819-31 (2008).
35. Zappa, C. & Mousa, S. A. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. *Translational Lung Cancer Research*, 5, 288–300 (2016).
36. Zoń, A. & Bednarek, I. Cisplatin in ovarian cancer treatment—known limitations in therapy force new solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (2023).
37. Lynch, H. T., Casey, M. J., Snyder, C. L., Bewtra, C., Lynch, J. F., Butts, M., Godwin, A. K. Hereditary ovarian carcinoma: heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management. *Molecular Oncology*, 3, 97–137 (2009).
38. Dasari, S. & Bernard Tchounwou, P. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 740, 364–78 (2014).
39. Wilson, J. J. & Lippard, S. J. Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes. *Chemical Reviews*, 114, 4470–95 (2014).

40. Johnstone, T. C., Suntharalingam, K. & Lippard, S. J. The next generation of platinum drugs: targeted Pt(II) agents, nanoparticle delivery, and Pt(IV) prodrugs. *Chemical Reviews*, 116, 3436–86 (2016).
41. Dilruba, S. & Kalayda, G. V. Platinum-based drugs: past, present and future. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77, 1103–24 (2016).
42. Fuertes, M., Castilla, J., Alonso, C. & Perez, J. Novel concepts in the development of platinum antitumor drugs. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents* 2, 539–51 (2002).
43. Wheate, N. J., Day, A. I., Blanch, R. J., Arnold, A. P., Cullinane, C., Collins, J. G. Multi-nuclear platinum complexes encapsulated in cucurbit[n]uril as an approach to reduce toxicity in cancer treatment. *Chemical Communications*, 4, 1424–25 (2004).
44. Pavelka, M., Lucas, M. F. A. & Russo, N. On the hydrolysis mechanism of the second-generation anticancer drug carboplatin. *Chemistry - A European Journal* 13, 10108–116 (2007).
45. Hartmann, J. T. & Lipp, H.-P. Toxicity of platinum compounds. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 4, 889–901 (2003).
46. Ghosh, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*, 88 (2019).
47. Alberto, M. E., Lucas, M. F. A., Pavelka, M. & Russo, N. The second-generation anticancer drug nedaplatin: a theoretical investigation on the hydrolysis mechanism. *Journal of Physical Chemistry B*, 113, 14473–79 (2009).
48. Kuwahara, A., Yamamori, M., Nishiguchi, K., Okuno, T., Chayahara, N., Miki, I., Tamura, T., Inokuma, T., Takemoto, Y., Nakamura, T., Kataoka, K., Sakaeda, T. Replacement of cisplatin with nedaplatin in a definitive 5-fluorouracil/cisplatin-based chemoradiotherapy in Japanese patients with esophageal squamous cell carcinoma. *International Journal of Medical Sciences*, 6, 305–11 (2009).
49. Kenny, R. G., Chuah, S. W., Crawford, A. & Marmion, C. J. Platinum(IV) prodrugs – a step closer to Ehrlich’s vision? *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2017, 1596–1612 (2017).
50. Article, R., Boulikas, T., Pantos, A., Bellis, E. & Christofis, P. Designing platinum compounds in cancer: structures and mechanisms. *Cancer Therapy*, 5 (2007).

51. Uehara, T., Yamate, J., Torii, M. & Maruyama, T. Comparative nephrotoxicity of cisplatin and nedaplatin: mechanisms and histopathological characteristics. *Journal of Toxicologic Pathology*, 24, 87–94 (2011).
52. Alderden, R. A., Hall, M. D., Hambley, T. W. & Kauffman, G. B. Chemistry for everyone the discovery and development of cisplatin. *Journal of Chemical Education*, 83 (2006).
53. Judson, I. & Kelland, L. R. New developments and approaches in the platinum arena. *Drugs*, 59 (2000).
54. Zhang, S., Lovejoy, K. S., Shima, J. E., Lagpacan, L. L., Shu, Y., Lapuk, A., Chen, Y., Komori, T., Gray, J. W., Chen, X., Lippard, S. J., Giacomini, K. M. Organic cation transporters are determinants of oxaliplatin cytotoxicity. *Cancer Research*, 66, 8847–57 (2006).
55. Woynarowski, J. M., Faivre, S., Herzig, M. C. S., Arnett, B., Chapman, W. G., Trevino, A. V., Raymond, E., Chaney, S. G., Vaisman, A., Varchenko, M., Juniewicz, P. E. Oxaliplatin-Induced Damage of Cellular DNA. *Molecular Pharmacology*, 58, 920-27 (2000).
56. Choi, C. H., Cha, Y. J., An, C. S., Kim, K. J., Kim, K. C., Moon, S. P., Lee, Z. H., Min, Y. D. Molecular mechanisms of heptaplatin effective against cisplatin-resistant cancer cell lines: less involvement of metallothionein. *Cancer Cell International*, 4, (2004).
57. Mckeage, M. J. Lobaplatin: a new antitumour platinum. *Expert Opinion on Investigational Drug*, 10, 119-28 (2001).
58. Minerva., Bhat, A., Verma, S., Chander, G., Jamwal, R., Sharma, B., Bhat, A., Katyal, T., Kumar, R., Shah, R. Cisplatin-based combination therapy for cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 19, 530–36 (2023).
59. Paclitaxel: Uses, interactions, mechanism of action. [Internet] DrugBank Online. [Acedido em 2024 set 18] Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01229>.
60. Moorsel, J. A. Van., Smid, K., Voorn, D A., Bergman, A M., Pinedo, H M., Peters, G J. Effect of gemcitabine and cis-platinum combinations on ribonucleotide and deoxyribonucleotide pools in ovarian cancer cell lines. *International journal of oncology*, 22, 201-07 (2003).
61. Gemcitabine: Uses, interactions, mechanism of action. [Internet] DrugBank Online. [Acedido em 2024 set 18] Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00441>.

62. Doxorubicin: Uses, interactions, mechanism of action. [Internet] DrugBank Online. [Acedido em 2024 set 18] Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00997>.
63. Tegafur-uracil: Uses, interactions, mechanism of action. [Internet] DrugBank Online. [Acedido em 2024 set 18] Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09327>.
64. Hartmann, J. T. & Lipp, H.-P. Toxicity of platinum compounds. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 4, 889–901 (2003).
65. Kosmidis, P., Mylonakis, N., Nicolaides, C., Kalophonos, C., Samantas, E., Boukovinas, J., Fountzilias, G., Skarlos, D., Economopoulos, T., Tsavdaridis, D., Papakostas, P., Bacoyiannis, C., Dimopoulos, M. Paclitaxel plus carboplatin versus gemcitabine plus paclitaxel in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III randomized trial. *Journal of Clinical Oncology*, 20, 3578–85 (2002).
66. Hirsh, V., Soulieres, D., Duclos, M., Faria, S., Vecchio, P. D., Ofiara, L., Ayoub, J., Charpentier, D., Gruber, J., Portelance, L., Souhami, L. Phase II multicenter trial with carboplatin and gemcitabine induction chemotherapy followed by radiotherapy concomitantly with low-dose paclitaxel and gemcitabine for stage IIIA and IIIB non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 2, 927–32(2007).
67. Matei, D. Novel agents in ovarian cancer. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 16, 1227–39 (2007).
68. Blick, S. K. A., Scott, L. J., Ciardiello, F., Magrassi, F., Lanzara, A., Galizia, G. Cetuximab: a review of its use in squamous cell carcinoma of the head and neck and metastatic colorectal cancer. *Drugs*, 67 (2007).
69. FDA approves irinotecan liposome for first-line treatment of metastatic pancreatic adenocarcinoma. [Internet] FDA. [Acedido em 2024 set 21] Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-irinotecan-liposome-first-line-treatment-metastatic-pancreatic-adenocarcinoma>.
70. Crabtree, R. H. . The Organometallic Chemistry of the Transition Metals. 6th ed. (2014).
71. Kishimoto, T., Yoshikawa, Y., Yoshikawa, K. & Komeda, S. Different effects of cisplatin and transplatin on the higher-order structure of DNA and gene expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, (2020).

72. Li, W., Jiang, M., Cao, Y., Yan, L., Qi, R., Li, Y., Jing, X. Turning ineffective transplatin into a highly potent anticancer drug via a prodrug strategy for drug delivery and inhibiting cisplatin drug resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 27, 1802–06 (2016).
73. Liu, Y. R., Ji, C., Zhang, H. Y., Dou, S. X., Xie, P., Wang, W. C., Wang, P. Y. Transplatin enhances effect of cisplatin on both single DNA molecules and live tumor cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 536, 12–24 (2013).
74. Mantri, Y., Lippard, S. J. & Baik, M.-H. Bifunctional binding of cisplatin to DNA: Why does cisplatin form 1,2-intrastrand cross-links with AG, but not with GA?. *Journal of the American Chemical Society*, 129, 5023-30 (2007).
75. Tchounwou, P. B., Dasari, S., Noubissi, F. K., Ray, P. & Kumar, S. Advances in our understanding of the molecular mechanisms of action of cisplatin in cancer therapy. *Journal of Experimental Pharmacology*, 13, 303–28 (2021).
76. Todd, R. C. & Lippard, S. J. Structure of duplex DNA containing the cisplatin 1,2- $\{Pt(NH_3)_2\}_2^{2+}$ -d(GpG) cross-link at 1.77Å resolution. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104, 902–08 (2010).
77. Brozovic, A., Ambriović-Ristov, A. & Osmak, M. The relationship between cisplatin-induced reactive oxygen species, glutathione, and BCL-2 and resistance to cisplatin. *Critical Reviews in Toxicology*, 40, 347–59 (2010).
78. Saad, S. Y., Najjar, T. A. & Alashari, M. Role of non-selective adenosine receptor blockade and phosphodiesterase inhibition in cisplatin-induced nephrogonadal toxicity in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 31, 862–67 (2004).
79. Peña-Blanco, A. & García-Sáez, A. J. Bax, Bak and beyond — mitochondrial performance in apoptosis. *FEBS Journal*, 285, 416–31 (2018).
80. Ozben, T. Oxidative stress and apoptosis: Impact on cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 2181–96 (2007).
81. Fuertes, M. A., Alonso, C. & Pérez, J. M. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. *Chemical Reviews*, 103, 645–62 (2003).
82. Reed, J. C. Apoptosis-based therapies. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1, 111–21 (2002).
83. Gupta, S. C., Hevia, D., Patchva, S., Park, B., Koh, W., Aggarwal, B. B. Upsides and downsides of reactive oxygen species for Cancer: The roles of reactive oxygen species in

- tumorigenesis, prevention, and therapy. *Antioxidants and Redox Signaling*, 16, 1295–1322 (2012).
84. Imamura, T., Izumi, H., Nagatani, G., Ise, T., Nomoto, M., Iwamoto, Y., Kohno, K. Interaction with p53 enhances binding of cisplatin-modified DNA by high mobility group 1 protein. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 7534–40 (2001).
 85. J.G. Moggs, D. E. S. M. Y. P. K. R. D. W. Differential human nucleotide excision repair of paired and mispaired cisplatin-DNA adducts, *Nucleic Acids Research*, 25, 480–491 (1997).
 86. Reardon JT, V. A. C. S. S. A. Efficient nucleotide excision repair of cisplatin, oxaliplatin, and Bis-aceto-ammine-dichloro-cyclohexylamine-platinum(IV) (JM216) platinum intrastrand DNA diadducts. *Cancer Research*, 59, 3968–71 (1999).
 87. Petrović, M. & Todorović, D. Biochemical and molecular mechanisms of action of cisplatin in cancer cells. *Medicine and Biology*, 18, 12-18 (2016).
 88. Wagner, J. M. & Karnitz, L. M. Cisplatin-induced DNA damage activates replication checkpoint signaling components that differentially affect tumor cell survival. *Molecular Pharmacology*, 76, 208–14 (2009).
 89. Pabla, N., Huang, S., Mi, Q. S., Daniel, R. & Dong, Z. ATR-Chk2 signaling in p53 activation and DNA damage response during cisplatin-induced apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 283, 6572–83 (2008).
 90. Shen, H., Perez, R. E., Davaadelger, B. & Maki, C. G. Two 4N cell-cycle arrests contribute to cisplatin-resistance. *PLoS One*, 8 (2013).
 91. Damia, G., Filiberti, L., Vikhanskaya, F., Carrassa, L., Taya, Y., D'incalci, M., Broggin, M. Cisplatin and taxol induce different patterns of p53 phosphorylation. *Neoplasia*, 3, 10–6 (2001).
 92. Appella, E. & Anderson, C. W. Post-translational modifications and activation of p53 by genotoxic stresses. *European Journal of Biochemistry*, 268, 2764–72 (2001).
 93. Jeffers, J. R., Parganas, E., Lee, Y., Yang, C., Wang, J., Brennan, J., Maclean, K. H., Han, J., Chittenden, T., Ihle, J. N., Mckinnon, P. J., Cleveland, J. L., Zambetti, G. P. Puma is an essential mediator of p53-dependent and-independent apoptotic pathways. *Cancer cell*, 4 (2003).
 94. Y. Lin, W. M. B. S. Pidd, a new death-domain-containing protein, is induced by p53 and promotes apoptosis. *Nature Genetics*, 26, 122–27 (2000).

95. Guy W.J. Makin, B. M. C. G. J. G. A. T. J. A. H. C. dive. Damage-induced Bax N-terminal change, translocation to mitochondria and formation of Bax dimers/complexes occur regardless of cell fate. *The EMBO Journal*, 20, 6306–6315 (2001).
96. Romani, A. M. P. Cisplatin in cancer treatment. *Biochemical Pharmacology*, 206 (2022).
97. Crona, D. J., Faso, A., Nishijima, T. F., McGraw, K. A., Galsky, M. D., Milowsky, M. I. A systematic review of strategies to prevent cisplatin-induced nephrotoxicity. *Oncologist*, 22, 609–19 (2017).
98. Morgan, K. P., Snavely, A. C., Wind, L. S., Buie, L. W., Grilley-Olson, J., Walko, C. M., Weiss, J. Rates of renal toxicity in cancer patients receiving cisplatin with and without mannitol. *Annals of Pharmacotherapy*, 48, 863–69 (2014).
99. O'Reilly, A., Ryan, S., MacEaney, P., O'Reilly, S. P., Cronin, S., Power, D. G..Lhermitte's phenomenon and platinum, beware of latency. *Oncology Research Treatment*, 37, 591–94 (2014).
100. Santos, N. A. G. dos, Ferreira, R. S. & Santos, A. C. dos. Overview of cisplatin-induced neurotoxicity and ototoxicity, and the protective agents. *Food and Chemical Toxicology*, 136 (2020).
101. Kartalou, M. & Essigmann, J. M. Mechanisms of resistance to cisplatin. *Mutation Research*, 478 (2001).
102. Schoeberl, A., Gutmann, M., Theiner, S., Corte-Rodríguez, M., Braun, G., Vician, P., Berger, W., Koellensperger, G. The copper transporter CTR1 and cisplatin accumulation at the single-cell level by LA-ICP-TOFMS. *Frontiers Molecular Biosciences*, 9, (2022).
103. Du, X. Li, H., Wang, X., Liu, Q., Ni, J., Sun, H. Kinetics and thermodynamics of metal binding to the N-terminus of a human copper transporter, hCTR1. *Chemical Communications*, 49, 9134–36 (2013).
104. Crider, S. E., Holbrook, R. J. & Franz, K. J. Coordination of platinum therapeutic agents to met-rich motifs of human copper transport protein1. *Metallomics* 2, 74–83 (2010).
105. Öhrvik, H. & Thiele, D. J. The role of Ctr1 and Ctr2 in mammalian copper homeostasis and platinum-based chemotherapy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31, 178–82 (2015).
106. Lee, Y. Y., Choi, C. H., Do, I. G., Song, S.Y., Lee, W., Park, H. S., Song, T. J., Kim, M. K., Kim, T. J., Lee, J. W., Bae, D. S., Kim, B. G. Prognostic value of the copper transporters,

- CTR1 and CTR2, in patients with ovarian carcinoma receiving platinum-based chemotherapy. *Gynecologic Oncology*, 122, 361–65 (2011).
107. Yoshida, H., Teramae, M., Yamauchi, M., Fukuda, T., Yasui, T., Sumi, T., Honda, K., Ishiko, O. Association of copper transporter expression with platinum resistance in epithelial ovarian cancer. *Anticancer Research*, 33, 1409–14 (2013).
 108. Li, Y. Q., Yin, J. Y., Liu, Z. Q. & Li, X. P. Copper efflux transporters ATP7A and ATP7B: Novel biomarkers for platinum drug resistance and targets for therapy. *IUBMB Life*, 70, 183–91 (2018).
 109. Katano, K., Kondo, A., Safaei, R., Holzer, A., Samimi, G., Mishima, M., Kuo, Y-M., Rochdi, M., Howell, S. B. Acquisition of resistance to cisplatin is accompanied by changes in the cellular pharmacology of copper. *Cancer research*, 62, 6559–65 (2002).
 110. Katano, K., Safaei, R., Samimi, G., Holzer, A., Rochdi, M., Howell, S. B. The copper export pump ATP7B modulates the cellular pharmacology of carboplatin in ovarian carcinoma cells. *Molecular Pharmacology*, 64, 466-73 (2003).
 111. Komatsu, M. et al. Copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) is associated with cisplatin resistance. *Cancer Research*, 60, 1312–6 (2000).
 112. Tadini-Buoninsegni, F., Bartolommei, G., Moncelli, M. R., Inesi, G., Galliani, A., Sinisi, M., Losacco, M., Natile, G., Arnesano, F. Translocation of platinum anticancer drugs by human copper ATPases ATP7A and ATP7B. *Angewandte Chemie - International Edition* 53, 1297–1301 (2014).
 113. Kuo, M. T., Fu, S., Savaraj, N. & Chen, H. H. W. Role of the human high-affinity copper transporter in copper homeostasis regulation and cisplatin sensitivity in cancer chemotherapy. *Cancer Research*, 72, 4616–21 (2012).
 114. Fu, S., Naing, A., Fu, C., Kuo, M. & Kurzrock, R. Overcoming platinum resistance through the use of a copper-lowering agent. *Molecular Cancer Therapeutics*, 11, 1221–25 (2012).
 115. Chen, S. J., Kuo, C. C., Pan, H. Y., Tsou, T. C., Yeh, S. C., Chang, J. Y. Mechanistic basis of a combination d-penicillamine and platinum drugs synergistically inhibits tumor growth in oxaliplatin-resistant human cervical cancer cells in vitro and in vivo. *Biochemical Pharmacology*, 95, 28–37 (2015).

116. Chisholm, C. L., Wang, H., Wong, A. H-H., Vazquez-Ortiz, G., Chen, W., Xu, X., Deng, C-X. Ammonium tetrathiomolybdate treatment targets the copper transporter ATP7A and enhances sensitivity of breast cancer to cisplatin. *Oncotarget*, 7, 84439-52 (2016).
117. Samimi, G., Safaei, R., Katano, K., Holzer, A. K., Rochdi, M., Tomioka, M., Goodman, M., Howell, S. B. Increased expression of the copper efflux transporter ATP7A mediates resistance to cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin in ovarian cancer cells. *Clinical Cancer Research*, 10, 4661-9 (2004)
118. Wei Wang and Nazzareno Ballatori. Endogenous Glutathione Conjugates: Occurrence and Biological Functions. *Pharmacological Reviews*, 50, 335–56 (1998).
119. Aldossary, S. A. Review on pharmacology of cisplatin: clinical use, toxicity and mechanism of resistance of cisplatin. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12, 7–15 (2019).
120. Wang, W., Wei, J., Tu, X. & Ye, X. Potential role of GST- π in lung cancer stem cell cisplatin resistance. *BioMed Research International*, 2021 (2021).
121. Kelley, S. L., Basu, A., Teicher, B. A., Hacker, M. P., Hamer, D. H., Lazo, J. S. Overexpression of metallothionein confers resistance to anticancer drugs. *Science*, 241, 1813-15 (1988).
122. Siddik, Z. H. Cisplatin Resistance Molecular Basis of a Multifaceted Impediment. *Cancer Drug Resistance* (2006).
123. Hishikawa, Y., Abe, S., Kinugasa, S., Yoshimura, H., Monden, N., Igarashi, M., Tachibana, M., Nagasue, N. Overexpression of metallothionein correlates with chemoresistance to cisplatin and prognosis in esophageal cancer. *Oncology*, 54, 342–7 (1997).
124. Gillet, L. C. J. & Schärer, O. D. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. *Chemical Reviews*, 106, 253–76 (2006).
125. Rocha, C. R. R., Silva, M. M., Quinet, A., Cabral-Neto, J. B. & Menck, C. F. M. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics*, 73 (2018).
126. Olausson, K. A., Dunant, A., Fouret, P., Brambilla, E., André, F., Haddad, V., Taranchon, E., Filipits, M., Pirker, R., Popper, H. H., Stahel, R., Sabatier, L., Pignon, J-P., Tursz, T., Le Chevalier, T., Soria, J-C. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *The New England Journal of Medicine*, 355 (2006).
127. Metzger, R., Leichman, C. G., Danenberg, K. D., Danenberg, P. V., Danenberg, P-J., Hayashi, K., Groshen, S., Salonga, D., Cohen, H., Laine, L., Crookes, P., Silberman, H.,

- Baranda, J., Konda, B., Leichman, L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 16, 309-16 (1998).
128. Martin, S. A., Lord, C. J. & Ashworth, A. Therapeutic targeting of the DNA mismatch repair pathway. *Clinical Cancer Research*, 16, 5107–13 (2010).
129. Gifford, G., Paul, J., Vasey, P. A., Kaye, S. B. & Brown, R. The acquisition of HMLH1 methylation in plasma DNA after chemotherapy predicts poor survival for ovarian cancer patients. *Clinical Cancer Research*, 10, 4420–26 (2004).
130. Plumb, J. A., Strathdee, G., Sludden, J., Kaye, S. B. & Brown, R. Reversal of drug resistance in human tumor xenografts by 2-deoxy-5-azacytidine-induced demethylation of the HMLH1 gene promoter 1. *Cancer research*, 60 (2000).
131. Asselin, E., Mills, G. B. & Tsang, B. K. XIAP regulates Akt activity and caspase-3-dependent cleavage during cisplatin-induced apoptosis in human ovarian epithelial cancer cells. *Cancer research*, 61, 1862–8 (2001).
132. Nomura, T., Yamasaki, M., Nomura, Y. & Mimata, H. Expression of the inhibitors of apoptosis proteins in cisplatin-resistant prostate cancer cells. *Oncology reports*, 14 (2005).
133. Low, S. Y., Tan, B. S., Choo, H. L., Tiong, K. H., Khoo, A. S. B., Leong, C. O. Suppression of BCL-2 synergizes cisplatin sensitivity in nasopharyngeal carcinoma cells. *Cancer Letters*, 314, 166–75 (2012).
134. Mateusz Gąsioriewicz, B., Koczurkiewicz-Adamczyk, P., Piska, K. & Pękala, E. Autophagy modulating agents as chemosensitizers for cisplatin therapy in cancer. *Investigational New Drugs*, 39, 538-63 (2020)
135. Xu, J. & Gewirtz, D. A. Is Autophagy Always a Barrier to Cisplatin Therapy?. *Biomolecules*, 12 (2022).
136. Qian, L., Yang, X., Li, S., Zhao, H., Gao, Y., Zhao, S., Lv, X., Zhang, X., Li, L., Zhai, L., Zhou, F., Chen, B. Reduced O-GlcNAcylation of SNAP-23 promotes cisplatin resistance by inducing exosome secretion in ovarian cancer. *Cell Death Discovery*, 7, (2021).
137. Zhou, F., Yang, X., Zhao, H., Liu, Y., Feng, Y., An, R., Lv, X., Li, J., Chen, B. Down-regulation of OGT promotes cisplatin resistance by inducing autophagy in ovarian cancer. *Theranostics* 8, 5200–12 (2018).

138. Cocetta, V., Ragazzi, E. & Montopoli, M. Mitochondrial involvement in cisplatin resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, (2019).
139. Frezza, C., Cipolat, S., Martins de Brito, O., Micaroni, M., Beznoussenko, G. V., Rudka, T., Bartoli, D., Polishuck, R. S., Danial, N. N., De Strooper, B., Scorrano, L., OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell* 126, 177–89 (2006).
140. Kong, B., Wang, Q., Fung, E., Xue, K. & Tsang, B. K. P53 is required for cisplatin-induced processing of the mitochondrial fusion protein L-Opa1 that is mediated by the mitochondrial metallopeptidase Oma1 in gynecologic cancers. *Journal of Biological Chemistry*, 289, 27134–45 (2014).
141. Shimizu, T., Fujii, T. & Sakai, H. The relationship between actin cytoskeleton and membrane transporters in cisplatin resistance of cancer cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8 (2020)..
142. Mokady, D. & Meiri, D. RhoGTPases - A novel link between cytoskeleton organization and cisplatin resistance. *Drug Resistance Updates*, 19, 22–32 (2015).
143. Guilluy, C. et al. The Rho GEFs LARG and GEF-H1 regulate the mechanical response to force on integrins. *Nature Cell Biology*, 13, 722–28 (2011).
144. Chatterjee, M. & Van Golen, K. L. Farnesyl transferase inhibitor treatment of breast cancer cells leads to altered RhoA and RhoC GTPase activity and induces a dormant phenotype. *International Journal of Cancer*, 129, 61–69 (2011).
145. Wang, W., Jia, Y., Liu, Y., Lv, X., Guo, L., Meng, S., Wang, C. Downregulation of RhoB inhibits cervical cancer progression and enhances cisplatin sensitivity. *Genes*, 15, 1186 (2024).
146. Chen, S. H. & Chang, J. Y. New insights into mechanisms of cisplatin resistance: From tumor cell to microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (2019).
147. Zhang, M., Chen, Z., Wang, Y., Zhao, H. & Du, Y. The role of cancer-associated fibroblasts in ovarian cancer. *Cancers* 14 (2022).
148. Chen, J., Zhao, D., Zhang, L., Zhang, J., Xiao, Y., Wu, Q., Wang, Y., Zhan, Q. Tumor-associated macrophage (TAM)-secreted CCL22 confers cisplatin resistance of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells via regulating the activity of diacylglycerol kinase α (DGK α)/NOX4 axis. *Drug Resistance Updates*, 73 (2024).

149. Eskandari, A., Kundu, A., Ghosh, S. & Suntharalingam, K. A triangular platinum(II) multinuclear complex with cytotoxicity towards breast cancer stem cells. *Angewandte Chemie - International Edition*, 58, 12059–64 (2019).
150. Karges, J. Chemical and photophysical triggers for the reduction of Pt(IV) prodrugs for anticancer therapy. *ChemNanoMat*, 9 (2023).
151. Yuan, Y., Kwok, R. T. K., Tang, B. Z. & Liu, B. Targeted theranostic platinum(IV) prodrug with a built-in aggregation-induced emission light-up apoptosis sensor for noninvasive early evaluation of its therapeutic responses in situ. *Journal of the American Chemical Society*, 136, 2546–54 (2014).
152. Yang, X., Yang, M., Pang, B., Vara, M. & Xia, Y. Gold Nanomaterials at work in biomedicine. *Chemical Reviews*, 115 10410–88 (2015).
153. Gao, F., Yuan, Q., Cai, P., Gao, L., Zhao, L., Liu, M., Yao, Y., Chai, Z., Gao, X. Au clusters treat rheumatoid arthritis with uniquely reversing cartilage/bone destruction. *Advanced Science*, 6, (2019).
154. Yuan, Q., Gao, F., Yao, Y., Cai, P., Zhang, X., Yuan, J., Hou, K., Gao, L., Ren, X., Gao, X. Gold clusters prevent inflammation-induced bone erosion through inhibiting the activation of NF- κ B pathway. *Theranostics*, 9, 1825–36 (2019).
155. Zhou, F., Feng, B., Yu, H., Wang, D., Wang, T., Liu, J., Meng, Q., Wang, S., Zhang, P., Zhang, Z., Li, Y. Cisplatin prodrug-conjugated gold nanocluster for fluorescence imaging and targeted therapy of the breast cancer. *Theranostics*, 6, 679–687 (2016).
156. Xu, C., Wang, Y., Zhang, C., Jia, Y., Luo, Y., Gao, X. AuGd integrated nanoprobe for optical/MRI/CT triple-modal in vivo tumor imaging. *Nanoscale*, 9, 4620–28 (2017).
157. Brown, S. D., Nativo, P., Smith, J. A., Stirling, D., Edwards, P. R., Venugopal, B., Flint, D. J., Plumb, J. A., Graham, D., Wheate, N. J. Gold nanoparticles for the improved anticancer drug delivery of the active component of oxaliplatin. *Journal of the American Chemical Society*, 132, 4678–84 (2010).
158. Xing, R., Wang, X., Zhang, C., Wang, J., Zhang, Y., Song, Y., Guo, Z. Superparamagnetic magnetite nanocrystal clusters as potential magnetic carriers for the delivery of platinum anticancer drugs. *Journal of Materials Chemistry*, 21, 11142–49 (2011).
159. Kang, X., Li, Y., Zhu, M. & Jin, R. Atomically precise alloy nanoclusters: syntheses, structures, and properties. *Chemical Society Reviews*, 49, 6443–6514 (2020).

160. Hu, X., Li, F., Noor, N. & Ling, D. Platinum drugs: from Pt(II) compounds, Pt(IV) prodrugs, to Pt nanocrystals/nanoclusters. *Science Bulletin*, 62, 589–96 (2017).
161. Gao, J., Liang, G., Zhang, B., Kuang, Y., Zhang, X., Xu, B. FePt@CoS₂ yolk-shell nanocrystals as a potent agent to kill HeLa cells. *Journal of the American Chemical Society*, 129, 1428–33 (2007).
162. Boulikas, T. Low toxicity and anticancer activity of a novel liposomal cisplatin (lipoplatin) in mouse xenografts. *Oncology reports*, 12, 3–12 (2004).
163. Boulikas, T. Molecular mechanisms of cisplatin and its liposomally encapsulated form, lipoplatintm. Lipoplatintm as a chemotherapy and antiangiogenesis drug. *Cancer Therapy*, 5, 349–76 (2007).
164. Ravaioli, A., Papi, M., Pasquini, E., Marangolo, M., Rudnas, B., Fantini, M., Nicoletti, S. V. L., Drudi, F., Panzini, I., Tamburini, E., Gianni, L., Pasini, G. LipoplatinTM monotherapy: a phase II trial of second-line treatment of metastatic non-small-cell lung cancer. *Journal of Chemotherapy*, 21, 86–90(2013).