



0620  
06532

B.D.

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN**  
**ESCUELA DE POSGRADO**

PROCEDIM.		PROCEDIM. TÉCNICOS	
CLASIF.	CLASIF.	CLASIF.	CLASIF.
✓		✓	✓

**PREVENCIÓN CON DIALILDISULFURO DE LA  
NEFROTOXICIDAD Y LEUCOPENIA PRODUCIDA POR  
CIS-DIAMINODICLOROPLATINO EN RATAS.  
POSIBLE COADYUVANTE DE LA ACCIÓN  
QUIMIOTERÁPICA.**

**Jessica Paola Chiarandini Fiore**

**Director: Dr. José Alberto Castro**

***Lugar de Trabajo: Centro de Investigaciones Toxicológicas  
CEITOX-CITEFA-CONICET***

***Tesis presentada para optar al título de Doctor en  
Ciencia y Tecnología. Mención Química.***

**RESUMEN**

El cis platino (cis-diamino dicloroplatino II) es uno de los fármacos quimioterapéuticos más efectivos para el tratamiento de distintos cánceres tales como los de ovario, testículos, vejiga, cabeza y cuello y cuello de útero, entre otros.

No obstante su empleo se ve frecuentemente limitado por su nefrotoxicidad, neurotoxicidad, ototoxicidad, leucopenia y mortalidad.

Este trabajo de tesis muestra los resultados iniciales de un posible coadyuvante que podría bloquear esta toxicidad sin comprometer y hasta mejorando la acción quimioterapéutica. Este compuesto es el dialildisulfuro (DADS), un componente mayoritario presente y disponible en el aceite esencial del ajo. El mismo presenta las siguientes características: no compromete la acción quimioterapéutica, es antioxidante, quelante de metales, inhibidor del CYP2E1 y preservante de la acción proapoptótica de las células tumorales.

Se emplearon cuatro grupos de ratas macho Sprague Dawly (Control, Control DADS, CisPt y CisPt/DADS). El CisPt se administró en una única dosis subcutánea (10,5 mg/Kg) en solución fisiológica.

El DADS se administró diariamente; el primer día, una hora antes de la administración del CisPt y luego durante los tres días subsiguientes, por vía intragástrica en aceite de oliva (146,25 mg/Kg). Los animales fueron sacrificados cinco días después de la administración del CisPt. Se efectuaron determinaciones de urea y creatinina en suero y se tomaron muestras de tejido renal para estudios histológicos y de quimioluminiscencia. Asimismo se utilizó la sangre para realizar recuento de leucocitos, aislación y fijación de linfocitos para observar la morfología externa de los mismos a través de microscopia electrónica de barrido.

La administración del DADS disminuye significativamente la nefrotoxicidad inducida por el CisPt evaluado por histología, como también los niveles de urea y creatinina sérica en relación a los animales tratados sólo con CisPt. También se encontró una disminución de la leucopenia y la mortalidad en los animales tratados con CisPt/DADS.

En experiencias *in vitro* se pudo observar que el DADS tiene la capacidad de interaccionar con las especies reactivas de oxígeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidroperóxidos, OH•) y con el hierro. Así también observamos que la emisión de quimioluminiscencia en los

---

animales tratados con CisPt/DADS presenta una disminución significativa en relación a los animales tratados sólo con CisPt.

En cuanto al contenido de platino en tejido renal no se observaron diferencias significativas entre los animales tratados sólo con CisPt y con CisPt/DADS.

La microscopia electrónica de las células blancas permitió observar que el tratamiento con DADS no altera la morfología de los linfocitos, asimismo en los animales tratados sólo con CisPt se observó la aparición de prolongaciones digitiformes, ausentes en los animales Controles.

En cambio, en los animales que recibieron tratamiento con CisPt/DADS se observó una disminución de estas prolongaciones, apareciendo prolongaciones que tienen la característica de no unir de manera múltiple a un grupo de células linfocitarias.

Otras investigaciones con el DADS mostraron que éste es capaz de inhibir la replicación celular y promover la apoptosis de células tumorales, lo que permitiría visualizar una potencial utilidad del DADS como coadyuvante del CisPt sin comprometer la acción quimioterapéutica. Sin embargo, es necesario realizar experiencias más exhaustivas asociadas a la generación inducida de tumores sólidos en los animales de experimentación.

**Palabras claves:** Cisplatino, dialil disulfuro, nefrotoxicidad, leucopenia.

---

---

ÍNDICE

<i>I- Introducción</i> .....	1
<i>I-A- Introducción general</i> .....	1
I-A-1- Estudio del daño celular por cisplatino a nivel renal.....	2
<i>I-B- Procesos que sufre una sustancia en el organismo</i> .....	4
I-B-I- Introducción.....	4
I-B-II-1- Absorción.....	5
I-B-II-2- Distribución.....	6
I-B-II-3- Biotransformación.....	7
I-B-II-3-1 Etapa 1.....	9
I-B-II-3-1-1- Sistema de oxidasa de función mixta.....	13
I-B-II-3-1-2- Reacciones de oxidación.....	15
I-B-II-3-1-3- Mecanismo de oxidación.....	16
I-B-II-3-1-4- Reacciones no oxidativas.....	17
I-B-II-3-1-5- Mecanismo de reducción del citocromo P-450.....	17
I-B-II-3-2- Etapa 2.....	18
I-B-II-4- Excreción.....	19
I-B-II-4-1- Excreción renal.....	19
<i>I-C- Sistema renal</i> .....	22
I-C-I- Generalidades.....	22
I-C-II- Anatomía.....	22
I-C-II-1- Glomérulo, túmulos contorneados, asa de Henle y túbulo colector.....	23
I-C-II-2- Vascularización renal.....	25
I-C-III- Histología.....	26
I-C-III-1- Glomérulo.....	26
I-C-III-2- Túbulo contorneado proximal.....	27
I-C-III-3- Asa de Henle.....	28
I-C-III-4- Túbulo distal.....	28
I-C-III-5- Túbulo colector.....	29
I-C-IV- Filtración glomerular y regulación.....	30
I-C-IV-1- Mecanismo de transporte a lo largo de la nefrona.....	30
I-C-IV-2- Túbulo proximal.....	31
I-C-IV-3- Asa de Henle.....	32
I-C-IV-4- Túbulo distal.....	33
I-C-IV-5- Túbulo colector.....	33
I-C-IV-6- Conductos excretores.....	34
I-C-IV-7- Mecanismos de concentración y dilución de la orina.....	35
I-C-IV-8- Pruebas de nefrotoxicidad.....	36
I-C-IV-8-1- Urea.....	36
I-C-IV-8-2- Creatinina.....	38
<i>I-D- La sangre y sus componentes</i> .....	40
I-D-I- Generalidades.....	40
I-D-II- Hematopoyesis.....	40
I-D-II-1- Origen y diferenciación de las células hematopoyéticas.....	40
I-D-II-2- Hematíes.....	41

I-D-II-3- Plaquetas.....	42
I-D-II-4- Glóbulos blancos.....	42
I-D-II-4-1- Neutrófilos.....	43
I-D-II-4-2- Eosinófilos.....	44
I-D-II-4-3- Basófilos.....	44
I-D-II-4-4- Monocitos.....	45
I-D-III- Linfocitos.....	46
I-D-III-1- Número.....	46
I-D-III-2- Aspecto.....	46
I-D-III-3- Sistema linfático.....	48
I-D-IV- Estudio de los leucocitos en sangre.....	49
I-D-IV-1- Recuento de leucocitos.....	49
<b>I-E- Nefrotoxicidad.....</b>	<b>52</b>
I-E-1- Daño al glomérulo.....	53
I-E-2- Túbulo proximal.....	54
I-E-3- Asa de Henle, túbulo distal y túbulo colector.....	56
I-E-4- Mecanismos básicos de nefrotoxicidad.....	57
I-E-4-1- Mecanismos celulares de nefrotoxicidad.....	59
I-E-4-2- Efecto tóxico directo sobre las células renales.....	60
I-E-4-2-1- Procesos lisosomales.....	61
I-E-4-2-2- Procesos mitocondriales.....	61
I-E-4-2-3- Papel del calcio en la toxicidad celular.....	62
I-E-4-3- Nefrotoxicidad indirecta.....	64
<b>I-F- Mecanismo de acción de los agentes tóxicos.....</b>	<b>66</b>
I-F-I- Radicales libres.....	66
I-F-I-1- Fuente de radicales libres.....	67
I-F-I-2- Toxicidad de los radicales libres.....	69
I-F-II- Stress oxidativo.....	70
I-F-III- Producción de ROS en el riñón.....	71
I-F-IV- Mecanismo de daño renal.....	72
I-F-IV-1- Peroxidación lipídica.....	73
I-F-IV-2- Productos formados en la peroxidación lipídica.....	75
I-F-IV-3- Importancia toxicológica de la peroxidación lipídica.....	76
I-F-IV-4- Daño oxidativo a proteínas.....	77
I-F-IV-5- Daño oxidativo al ADN.....	78
I-F-V- Estrategias antioxidantes.....	78
I-F-V-1- Sistema de defensa biológica contra los radicales libres.....	78
I-F-V-2- Sistemas de defensas antioxidantes.....	80
<b>I-G- Características del cis-diaminodicloroplatino II.....</b>	<b>82</b>
I-G-I- Quimioterapia.....	82
I-G-II- Farmacología y origen quimioterápico.....	83
I-G-III- Datos clínicos.....	83
I-G-IV- Mecanismo de acción.....	84

I-G-IV-1- Otros eventos participantes en el mecanismo de acción del cisplatino.....	89
I-G-IV-2- Resistencia al cisplatino.....	90
I-G-V- Indicaciones terapéuticas.....	93
I-G-VI- Posología y forma de administración.....	93
I-G-VII- Advertencias y precauciones especiales de empleo.....	94
I-G-VIII- Interacción con otros medicamentos.....	96
I-G-IX- Reacciones adversas.....	97
I-G-X- Farmacocinética y farmacodinamia.....	102
I-G-XI- Cisplatino y su relación con efectos de carcinogénesis, mutagénesis y teratogénesis.....	103
<b>I-H- Principio de protección contra el daño inducido por tóxicos.....</b>	<b>104</b>
I-H-I- Mecanismos de protección.....	104
I-H-II- Prevención del daño inducido por sustancias químicas.....	105
I-H-III- Compuestos de ajo.....	106
I-H-III-1- Propiedades farmacológicas e interacciones terapéuticas.....	106
I-H-III-1-1- Perspectiva histórica.....	106
I-H-III-1-2- Composición química.....	107
I-H-III-1-3- Propiedades farmacológicas.....	111
I-H-III-1-4- Indicaciones.....	117
I-H-III-1-5- Reacciones adversas.....	120
I-H-III-1-6- Interacciones.....	120
<b>II- Objetivos.....</b>	<b>122</b>
<b>III- Materiales y métodos.....</b>	<b>123</b>
III-I- Materiales.....	123
III-I-1- Sustancias químicas.....	123
III-I-2- Equipamiento.....	123
III-I-3- Animales.....	124
III-I-4- Dosis empleadas.....	125
III-I-5- Tratamiento.....	125
III-II- Métodos.....	127
III-II-1- Determinaciones enzimáticas.....	127
III-II-1-1- Urea.....	127
III-II-1-2- Creatinina.....	129
III-II-2- Técnica histológica.....	131
III-II-3- Contenido de Pt en riñón.....	135
III-II-4- Determinación de quimioluminiscencia inducida por ter-butilhidroperóxido en homogenato de riñón.....	136
III-II-5- Determinación de la interacción entre las especies reactivas de oxígeno y el DADS.....	138
III-II-5-1- Sistema de Fenton.....	138
III-II-5-2- ter- butilhidroperóxido.....	139
III-II-6- Recuento de leucocitos.....	140

III-II-7-1- Aislación de linfocitos.....	142
III-II-7-2- Fijación de linfocitos.....	144
III-II-8- Determinación de proteínas.....	145
III-II-9- Evaluación estadística.....	147
<i>IV- Resultados</i> .....	148
IV-A- Estudio del efecto del cisplatino sobre la toxicidad en riñón.....	148
IV-A-1- Creatinina sérica.....	149
IV-A-2- Urea sérica.....	150
IV-A-3- Examen histológico.....	151
IV-A-4- Efecto del DADS en la mortalidad inducida por cisplatino.....	154
IV-A-5- Efecto del DADS en la diferencia de pesos inducida por cisplatino.....	155
IV-A-6- Contenido de Pt en tejido renal.....	157
IV-A-7- Ensayos <i>in Vitro</i> .....	158
IV-A-7-1- Quimioluminiscencia inducida por ter-butilhidroperóxido en homogenato de tejido renal de animales tratados con cisplatino.....	158
IV-A-7-2- Interacción entre el DADS y las especies reactivas de oxígeno.....	159
IV-B- Estudio del efecto del cisplatino sobre la toxicidad en células blancas	162
IV-B-1- Recuento de leucocitos.....	163
IV-B-2- Estudio preliminar sobre el efecto del CisPt en linfocitos.....	164
<i>V- Discusión</i> .....	170
<i>VI- Conclusiones</i> .....	177
<i>VII- Bibliografía</i> .....	179
<i>VIII- Abreviaturas</i> .....	209
<i>IX- Apéndice</i> .....	212