

Artigo

Quimioterápicos Antineoplásicos à Base de Platina Sob a Luz da Biologia Evolutiva

da Silva, R. G.; Silva, W. E.; Belian, M. F.*

Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (5), 1140-1167. Data de publicação na Web: 15 de outubro de 2018

<http://rvq.sbq.org.br>

Antineoplastic Chemotherapics Platinum-Based Under the Light of Evolutionary Biology

Abstract: The platinum-based coordination compounds consist of an important class of antineoplastic chemotherapeutics with a view to their worldwide commercialization. Even cisplatin being officially approved in 1978 by the FDA, Cairns (in 1975) and Nowell (1976) had already postulated the emergence of drug-resistant tumor cells via somatic evolution; i.e., the need for reflection on Darwinian dynamics was already known. The evolutionary adaptations of cancer must be known in order to avoid the arise of the multidrug resistance phenomenon (MDR), whose phenotypic expressions may include processes such as angiogenesis, inflammatory lesions, oxidative metabolism and ultra-expression of telomerase, acquired during the stages of carcinogenesis. In this paper, we discuss the platinum composition and a view of evolutionary biology in the design of new platinum-drugs antineoplastic influenced by what we call of the "Bait-Hook principle".

Keywords: Cancer; antitumor agents; evolutionary biology.

Resumo

Os compostos de coordenação à base de platina, de uma forma geral, consistem em uma importante classe de quimioterápicos antineoplásicos, tendo em vista sua comercialização mundial. Mesmo a cisplatina sendo aprovada oficialmente em 1978 pelo FDA, Cairns (em 1975) e Nowell (1976) já havia postulado o surgimento de células tumorais resistentes às drogas mediante evolução somática; ou seja, já era conhecida a necessidade de reflexão acerca da dinâmica Darwiniana. As adaptações evolutivas do câncer devem ser conhecidas com a finalidade de evitar o surgimento do fenômeno de resistência às múltiplas drogas (*Multidrug Resistance* – MDR), cujas expressões fenotípicas podem consistir em processos de angiogênese, lesões inflamatórias, metabolismo oxidativo e a ultra-expressão da telomerase adquiridas durante as etapas da carcinogênese. Neste artigo serão discutidos aspectos gerais acerca dos compostos de platina e a visão da biologia evolutiva na concepção (design) de novos fármacos antineoplásicos platínicos influenciados pelo que chamamos "Princípio Isca-Anzol".

Palavras-chave: Câncer; agentes antitumorais; biologia evolutiva.

* Universidade Federal de Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Av. Dom Manoel de Medeiros, S/N, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

✉ mfbelian@gmail.com; monica.freirebelian@ufrpe.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20180081](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180081)

Quimioterápicos Antineoplásicos à Base de Platina Sob a Luz da Biologia Evolutiva

Renê Gomes da Silva, Wagner Eduardo da Silva, Mônica Freire Belian*

Universidade Federal de Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Av. Dom Manoel de Medeiros, S/N, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

* mfbelian@gmail.com; monica.freirebelian@ufrpe.br

Recebido em 23 de junho de 2018. Aceito para publicação em 4 de outubro de 2018

1. Introdução
2. Agentes Antitumorais Baseados em Platina (II)
 - 2.1. Propriedades antitumorais dos complexos de platina
 - 2.2. Metabolismo, distribuição e toxicidade dos complexos de platina
3. Fatores de Resistência a Fármacos
4. Biologia Evolutiva Aliada à Pesquisa do Câncer
5. Design de Novos Candidatos à Fármacos Dentro da Perspectiva da Biologia Evolutiva
6. Considerações Finais

1. Introdução

Atualmente, o câncer representa a segunda maior causa de morte no mundo, ficando atrás apenas para as doenças cardiovasculares. A Organização Mundial de Saúde (OMS), através do documento *World cancer report – 2014*; prevê que nas próximas décadas o impacto do câncer na população irá acarretar em cerca de 20 milhões novos casos no ano de 2025.¹ No Brasil, as estatísticas apontam para uma inquestionável problemática de saúde pública, configurando uma necessidade urgente de planejamento, desenvolvimento e mudanças nos regimes quimioterápicos que se preocupam apenas com o tratamento da doença e não com o

paciente. As estimativas para os anos de 2018-2019 mostram que no Brasil teremos cerca de 420 mil novos casos de câncer, sendo 170 mil casos para o câncer de pele não melanoma.²

O câncer se refere a um conjunto de mais de 200 doenças, e pode ser originado por um processo decorrente de várias etapas que envolvem mudanças em certo número de genes, ocasionando assim, uma expansão clonal de células mutantes.³⁻⁵ Essas mudanças genotípicas são usualmente acompanhadas de uma alteração da morfologia do tecido, a qual resulta em uma progressão mais severa, citológica e nuclear, de atipia (desvio da morfologia normal).⁶

O estudo em animais possibilitou, à comunidade científica, a identificação dos

diversos fatores que contribuem para os mecanismos de formação dos tumores (carcinogênese); entre os quais, podemos citar como sendo os agentes químicos, radiação, hormônios, fatores da dieta, agentes infecciosos e *stress* oxidativo.⁷ Os vários processos da carcinogênese podem ser explicados segundo um modelo dividido em três estágios: (i) Iniciação, (ii) Promoção e (iii) Progressão.⁸⁻¹⁰ A iniciação consiste em uma interação irreversível do agente carcinógeno com o DNA nuclear (nDNA), causando-lhe um dano. O processo de iniciação não necessariamente será responsável pela origem do tumor, mesmo que os outros estágios da carcinogênese venham a ocorrer, auxiliando a evolução desse processo. Neste estágio não é possível à detecção patológica, porém pode contribuir para a produção de células que serão futuros tumores. Ao

contrário da iniciação, a promoção é reversível, consistindo em uma facilitação da expressão de algumas células iniciadas, as quais lideram a produção de uma lesão precursora e tumores benignos. A progressão é um processo através do qual, tumores benignos tornam-se malignos, cuja evolução ocorre com o aumento da malignidade. Isto se deve a um acúmulo de alterações genéticas múltiplas, as quais conduzem células normais a outras altamente malignas. Uma análise molecular do câncer, nas várias etapas da progressão e nos processos de metástase, tem demonstrado que alterações nos genes supressores de tumores e nos oncogenes irão definir a agressividade do tumor; sendo assim, não seria estranho apresentar como a maior característica desse estágio da carcinogênese, a instabilidade genômica (Figura 1).

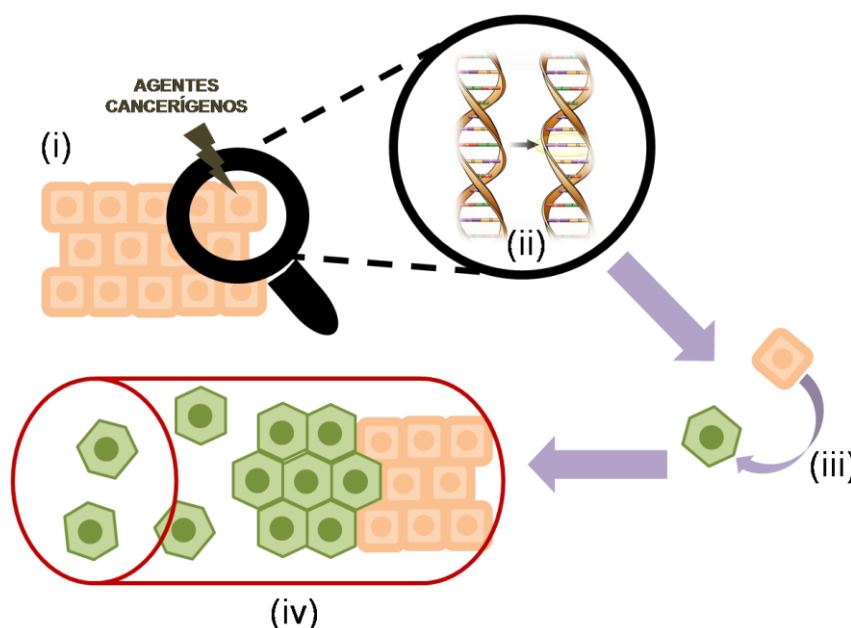


Figura 1. Esquema do processo de carcinogênese com suas três etapas: (i) iniciação, (ii) e (iii) promoção, e (iv) progressão

Independente da origem e/ou malignidade, existem diversas abordagens terapêuticas para o tratamento do câncer, como, cirurgia, radioterapia e quimioterapia, sendo esta última utilizada em mais de 80 % dos tratamentos, devido a sua eficácia. Os primeiros quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer foram às mostardas

nitrogenadas. Pertencente a classe dos agentes alquilantes, esses compostos eletrofilicos interagem com nDNA através de ligações covalentes, alquilando principalmente as bases purínicas e pirimidínicas.¹¹ Os complexos de platina inicialmente foram classificados como agentes alquilantes, porém atualmente sabe-

se que as ligações entre o centro platínico e as bases nitrogenadas são de natureza coordenativa, o que descaracteriza a classificação alquilante, levando esta classe de compostos a uma nova categoria de quimioterápicos antineoplásicos.¹²

Anualmente são produzidos e testados diversos compostos, de natureza orgânica ou inorgânica, que apresentam uma promissora atividade antitumoral. Apesar disso, apenas 84 compostos foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) para serem utilizados na terapia do câncer.¹³⁻¹⁷

O desenvolvimento de novos fármacos antitumorais apresenta uma série de dificuldades, como: problemas com o suprimento e síntese (financeiro), formulações impróprias (ausência de veículos, micelas e/ou espécies que minimizem os efeitos colaterais), patentes insuficientes e/ou problemas com o licenciamento, toxicidade prematura excessiva, rotina ineficiente e cronograma de administração, toxicidade em longo prazo imprevisível, atraso na execução dos ensaios clínicos; e fatores de resistência (adquiridos ou fenômeno de resistência a múltiplas drogas).¹⁸⁻²⁰

2. Agentes Antitumorais Baseados em Platina (II)

2.1. Complexos de platina

O primeiro relato acerca da síntese e estudo dos complexos de platina foi feito por *Michele Peyrone*, em 1844. *Peyrone* dedicava-se a estudos com o sal verde de *Magnus* - $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4][\text{PtCl}_4]$ - com a finalidade de avaliar propriedades e reatividade dessa classe de compostos. No entanto, na tentativa de sintetizar o sal verde de *Magnus* por adição de excesso de amônia em uma solução acidificada de " PtCl_2 ", *Peyrone* percebeu que se formavam dois produtos no meio - um verde (sal verde de *Magnus*) e um amarelo. Com base na baixa solubilidade do sal verde

Magnus em meio contendo ácido clorídrico, *Peyrone* conseguiu separar e isolar os complexos. O filtrado obtido e isolado apresentava propriedades físico-químicas totalmente diferentes, e devido a isso foi denominado de cloreto de *Peyrone*. Apenas em 1893, através dos estudos de química de coordenação de *Alfred Werner*, o cloreto de *Peyrone* teve sua estrutura elucidada. O cis-diaminodichloroplatina (II) ou cisplatina (CDDP) é um complexo no qual a platina bivalente encontra-se coordenada a duas moléculas de amônia (NH_3) e a dois íons cloreto (Cl^-), numa estrutura do tipo quadrado plano. A platina (II) ocupa o centro do quadrado, as duas moléculas de NH_3 são vizinhas, em dois vértices do quadrado, e os dois íons Cl^- ocupam os outros dois vértices.^{21,22}

Em 1964, a CDDP foi "redescoberta" através de experimentos dos pesquisadores *Barnett Rosenberg*, *Thomas Krigas* e *Loretta Van Camp*, do Departamento de Biofísica da Universidade do Estado de Michigan. *Rosenberg* e colaboradores estudavam o efeito com campo elétrico sob uma colônia de bactérias do tipo *Escherichia coli*.²³

O experimento proposto por *Rosenberg* e sua equipe consistia em avaliar as propriedades eletrolíticas da colônia de bactérias e para isso foram utilizados eletrodos de platina e meio de cultura contendo cloreto de amônio, dihidrogenofosfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, sulfato de sódio e glicose. O campo elétrico era então aplicado por um período de 2 horas. Durante esse período, *Rosenberg* observou que o meio, antes límpido, tornava-se turvo. Após examinar o meio com auxílio de um microscópio, *Rosenberg* observou que a bactéria que apresentava a forma de bastonete assumia um aspecto filamentosos. Os filamentos eram longos e aumentavam rapidamente de tamanho, chegando a um aumento de até 300 vezes, em relação ao seu tamanho original, num período de 1 a 2 horas, depois que o campo havia sido ligado. *Rosenberg* percebeu que o processo normal de divisão celular na bactéria era inibido, sem

afetar o crescimento das células. Após 8 horas, o processo de divisão celular era reiniciado e a população inicial da bactéria era regenerada. Muitos experimentos foram realizados, variando-se as condições de trabalho, como a intensidade do campo elétrico, pH, temperatura, tempo e concentração dos nutrientes. Observou-se também que o oxigênio do ar era necessário para o crescimento celular.²⁴

Rosenberg e sua equipe começaram a estabelecer hipóteses sobre os fatores que estariam provocando o fenômeno observado, entre as quais se levantou a possibilidade de formação de uma nova espécie química no meio de cultura, durante a aplicação do campo elétrico. Pensou-se, então, na possibilidade de a substância formada ser um composto de platina, proveniente do eletrodo, mesmo tratando-se de um metal aparentemente “inerte” para aquelas condições. Fazendo uso de outros eletrodos (ferro e cobre) o fenômeno não se repetia, confirmando algo intrínseco ao eletrodo de

platina, despertando assim, interesse para explicar o ocorrido. *Rosenberg* e sua equipe concluíram então, que a principal espécie responsável pela inibição da divisão celular da bactéria *Escherichia coli* tratava-se da CDDP - *cis*-[Pt(Cl)₂(NH₃)₂].²⁵

Após testes com outras bactérias, *Rosenberg* passou a trabalhar com a possibilidade de utilizar à CDDP no tratamento de células tumorais humanas. Os testes iniciais foram realizados com tumores malignos do tipo Sarcoma 180, implantados em camundongos albinos *swiss* machos (Tabela 1). Após a administração de quantidades adequadas de cisplatina, verificou-se que o complexo era um eficiente agente antitumoral.²⁶ Outros tipos de tumores foram testados e a cisplatina apresentou a mesma eficiência. Nesta fase de testes com animais, constatou-se que a cisplatina, em dose muito alta produzia diversos efeitos colaterais, como, nefrotoxicidade, ototoxicidade, alopecia, náuseas, tonturas e vômito.

Tabela 1. Teste de confirmação dos resultados de regressão dos tumores sólidos de sarcoma-180 em camundongos com aplicação da *cis*-[Pt(Cl)₂(NH₃)₂]

Composto	Posologia (mg/kg)	Nº de animais	Mortes	Nº de curas	% de cura
<i>cis</i> -[Pt(Cl) ₂ (NH ₃) ₂]	8,0	21	5	16	63
Controle	0	30	26	4	13

Em 1971, pacientes terminais foram submetidos ao tratamento com cisplatina e o resultado foi, mais uma vez, surpreendente. A cisplatina se mostrou muito eficiente em diferentes tipos de tumores e cerca de 50 % dos pacientes foram praticamente curados. Em 1978, a cisplatina foi oficialmente aprovada como agente antitumoral, pelo FDA e liberada para uso clínico. Em 1979, a droga foi difundida no Reino Unido e Canadá, em seguida, em todo mundo, inclusive no Brasil, com os nomes de neoplatina® e platinol®. Clinicamente, a cisplatina era mais eficiente

quando usada em combinação com outras drogas já conhecidas como a ciclofosfamida, a bleomicina e a adriamicina, além de outras. Depois desse trabalho pioneiro de *Rosenberg-Krigas-Van Camp*, um número enorme de complexos metálicos, principalmente de platina, foram estudados.^{27,28} Até 2016, cerca de 186000 compostos de platina encontram-se em testes clínicos em 180 países, demonstrando o interesse nesta classe de compostos.²⁹ Diante de fármacos platínicos já testados contra o câncer, diversos problemas ficaram evidentes, entre os quais podemos

citar as diversas manifestações da toxicidade (várias localidades do corpo) e a resistência à droga. Este último problema é explicado segundo um mecanismo biológico, que na busca de redução do acúmulo de platina no corpo, aumenta a remoção e torna-se mais tolerante a presença dos complexos Pt-nDNA.²⁹

Dentre as mais diversas manifestações de toxicidade dos fármacos de platina destacam-se a neurotoxicidade, nefrotoxicidade e ototoxicidade. A manifestação mais comum do mecanismo associado à neurotoxicidade, em pacientes tratados com fármacos de platina é a neuropatia sensitiva periférica, que é considerada uma síndrome neurológica secundária à terapêutica antineoplásica, caracterizada por parestesias e disestesias.⁴⁷ A neuropatia sensitiva periférica geralmente é desencadeada bioquimicamente através de processos inflamatórios e danos oxidativos ao organismo humano.³⁰ As biópsias de nervo periférico, realizadas em pacientes tratados com cisplatina, por exemplo, revelaram uma diminuição da mielinização e substituição por bolsas de colágeno.⁴⁷ O mecanismo proposto para a neuropatia sensitiva periférica induzida por quimioterápicos platínicos, como a cisplatina e carboplatina, consiste na redução do transporte axonal, e como consequência disso, o organismo induz a apoptose em neurônios sensoriais. No caso da oxaliplatina dois tipos de neuropatias são observados: (i) aguda e reversível e (ii) crônica. Alguns estudos sugerem que a neuropatia aguda é decorrente da liberação do íon oxalato, que apresenta capacidade de se coordenar com o íon cálcio extracelular, gerando uma despolarização dos neurônios sensoriais e consequente hiperexcitabilidade da membrana.^{31,32} A origem da neuropatia crônica deve-se a uma repetição dos processos da forma aguda. Além disso, alguns estudos experimentais mostram o acúmulo desses complexos em corpos celulares dos gânglios da raiz dorsal, o que resulta na diminuição do metabolismo celular e no transporte axonal. Outra explicação para o processo de neuropatia crônica sugere que ocorrem lesões mitocondriais através do

aumento de processos oxidativos ocasionados por quimioterápicos platínicos.^{31,32}

A nefrotoxicidade de complexos de platina pode ser atribuída à via de excreção ser principalmente pelos rins, o que em algumas horas podem elevar a concentração desses compostos neste órgão interferindo no sistema de transporte renal.³³ A cisplatina, por exemplo, mesmo que administrada em baixas concentrações, durante o processo de excreção renal, alcança níveis tóxicos aos rins, uma vez que a nefrotoxicidade é um fator dose-dependente. Com isso, a concentração de cisplatina nas células tubulares epiteliais é cerca de cinco vezes maior que no sangue, o que em muitos casos comprometem a eficácia do tratamento.³⁴ Ao chegar aos rins, os compostos de platina se acumulam nos túbulos proximais, essencialmente nas células do epitélio tubular do segmento S-3, ocasionando danos aos glomérulos e túbulos distais dependente do acúmulo e uso prolongado destes compostos.³⁵

Os complexos de platina apresentam como efeito colateral ao tratamento quimioterápico o fenômeno da ototoxicidade. Em particular, pacientes submetidos à cisplatina, apresentaram alterações na audiometria de alta frequência em 100 % dos casos, com perda da audição que varia entre 4 e 50 dB.³⁶⁻³⁹ Após a administração da cisplatina são geradas espécies reativas de oxigênio na cóclea, que são responsáveis por necrose e apoptose das células cocleares.^{40,41} Os processos de apoptose das células do ouvido interno geralmente é desencadeado pela formação do complexo Pt-DNA, assim como, o mecanismo aceito para inibir a progressão neoplásica. Outra via proposta para o mecanismo da ototoxicidade, observada em modelos animais, estabelece que a formação de espécies reativas de oxigênio desencadeia uma cascata de reações intracelulares até o processo de apoptose.⁴²

2.2 Bioquímica dos complexos de platina

A atividade antitumoral da maioria dos fármacos com platina deve-se principalmente a fatores cinéticos relacionados às reações de substituição dos ligantes presentes na primeira esfera de coordenação.⁴³ As ligações devem obedecer a uma espécie de estabilidade em meio fisiológico, a qual permitirá a troca de ligantes (labilidade), ou seja, grupos de saída estarão aptos para serem trocados apenas frente às bases nitrogenadas do nDNA.

Após ser administrada, a CDDP no meio fisiológico apresenta baixa reatividade, devido à alta concentração de íons cloreto ($[Cl^-]$) no

plasma (100 mmol L^{-1}). Durante o transporte para o interior citoplasmático das células, cuja concentração de íons cloreto decresce para 4 mmol L^{-1} ,⁴⁴ os grupos cloreto da cisplatina são substituídos por moléculas de água, os quais irão formar espécies como $cis-[Pt(Cl)(H_2O)(NH_3)_2]^+$ e $cis-[Pt(H_2O)_2(NH_3)_2]^{2+}$, cuja alta e indiscriminada reatividade irá determinar a elevada atividade tóxica. As formas aquo apresentam alta labilidade, e devido a isso, os centros platínicos se coordenam as bases nitrogenadas do nDNA, principalmente ao N7 da guanina (aproximadamente 65 %) e adenina (aproximadamente 25 %) (centros mais básicos – Figura 2). Dessa forma, a CDDP inibe a replicação do DNA, transcrição do RNA e a síntese de proteínas.

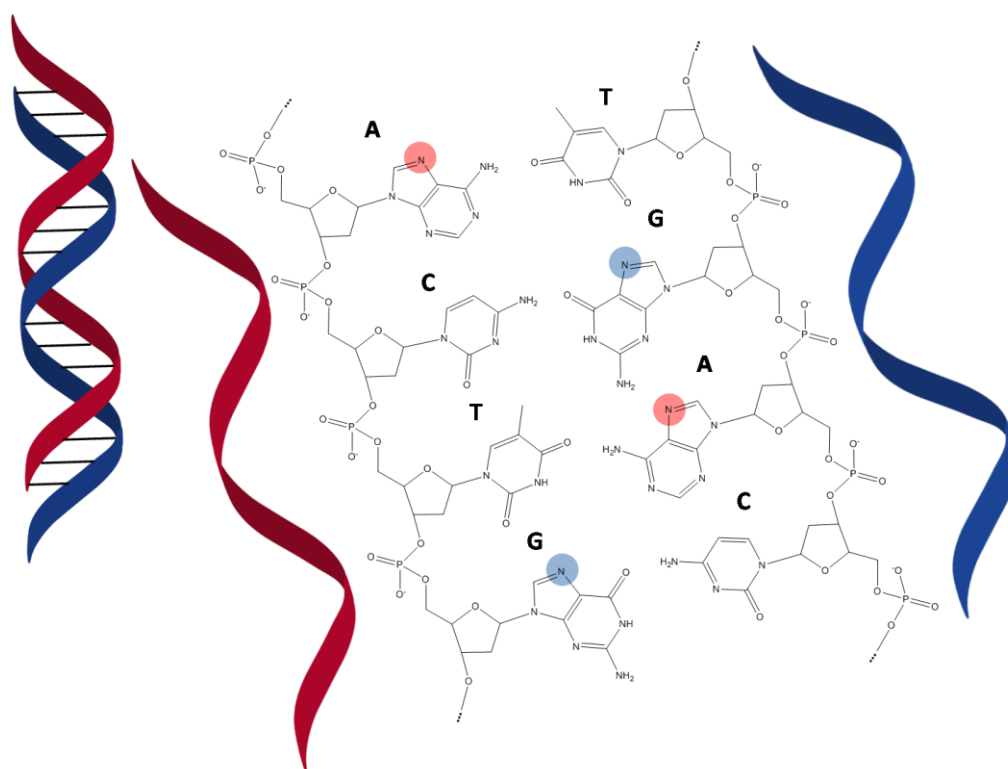


Figura 2. Estrutura simplificada do nDNA (A = adenina, C = citosina, T = timina e G = guanina), destacando em vermelho e azul os centros básicos, mais susceptíveis a coordenação do íon Pt(II), da adenina e guanina (N7), respectivamente

A atividade farmacológica da CDDP encontra-se intrinsecamente dependente de fenômenos dinâmicos de influxo e efluxo, definindo assim, após sua administração, uma

nova taxa do fármaco realmente efetiva.⁴⁵ Muitos são os esforços e pesquisas aplicados para definirem os mecanismos através dos quais a CDDP entra e sai da célula; entretanto,

enorme é a dificuldade para se definir isso com exatidão. Alguns trabalhos presentes na literatura apresentam evidências que sustentam a difusão passiva e o transporte mediado por carreadores como os principais responsáveis pelo influxo;⁴⁶ sendo o tratamento farmacológico, baseado na CDDP, representado por condições fisiológicas as quais irão regular carreadores moleculares e canais iônicos, definindo assim o acúmulo da CDDP. Sabe-se que os canais iônicos permitem a passagem de 10^6 - 10^7 espécies por segundo e que os carreadores movimentam 10^2 - 10^4 espécies por segundo, que o acúmulo da CDDP é dependente da concentração de sódio, pode ser alterado pelo esgotamento de adenosina trifosfato (ATP), elevação da adenosina monofosfato cíclica (cAMP), força osmótica, pH, polarização da membrana, agonista da proteína quinase C (PKC) e antagonista da calmodulina. Entretanto, persiste a dificuldade em gerar agentes capazes de saturar ou bloquear algumas das possíveis passagens utilizadas pelo sistema biológico, no que se refere à CDDP e demais drogas antitumorais, garantindo um melhor desempenho quanto ao influxo e diminuição do efluxo.⁴⁷

Alguns trabalhos presentes na literatura demonstraram também que células de L1210 (leucemia murina) resistentes à CDDP apresentaram resistência cruzada ao metotrexato (agente antitumoral antifolato), decrescendo o transporte desse último; isso se atribuiu ao decréscimo da fosforilação de proteínas da membrana, bem como à diminuição da expressão de proteínas reconhecidas de folato (PRF); adjunto a isso, verificou-se que algumas células submetidas ao tratamento com metotrexato, e com consequente redução da expressão das PRF, não apresentaram resistência cruzada à CDDP, mostrando que os fármacos à base de platina não competem por esses sítios reconhecidos de folato, devendo gerar a partir de outra via de reconhecimento e interação o fenótipo da resistência à droga.^{48,49}

Os fármacos à base de platina são descritos geralmente como atuantes no nDNA (principal alvo); sendo que, a essa restrição de grau de liberdade caracterizada pela formação do composto de coordenação Pt-nDNA, o dano causado poderá ser conduzido a uma sinalização de resposta apoptótica (morte celular programada) ou conduzir o dano a uma nova condição de tolerância ao quimioterápico e consequente resistência ao novo fator tóxico (Pt-nDNA – Figura 3).⁵⁰

O mecanismo de reparo de incompatibilidade (*Mismatch Repair* - MMR) das bases nitrogenadas do nDNA desempenha um papel muito importante para a manutenção da integridade genômica, e sendo a presença da platina no nDNA, caracterizada como uma lesão gênica, não seria inesperada uma correlação entre proteínas-MMR e algumas drogas que atuam sobre o nDNA.^{51,52} O que se verifica é uma relação entre as drogas antitumorais utilizadas (como por exemplo: 6-tioguanina, cisplatina, carboplatina, doxorubicina, etoposídeo), a expressão das proteínas-MMR e o desencadeamento da apoptose; ou seja, a perda da expressão das proteínas-MMR pode contribuir para a perda da sinalização biológica da apoptose e conduzir as células a um estado de resistência às drogas. Diversos estudos demonstraram que a transplatina se mostra ineficaz devido aos seus complexos com o nDNA serem reparados mais eficientemente que os do análogo *cis*. Este último resultado deve ser consequência de um reconhecimento diferencial de complexos Pt-nDNA, por enzimas reparadoras ou algum outro fator modulador do reparo. Havendo a confirmação de fatores bioquímicos envolvidos no desempenho antitumoral das drogas à base de platina, diversos mecanismos que disparam a apoptose são propostos, havendo neles um senso comum quanto ao ciclo de reparo enzimático, reconhecimento biológico do complexo Pt-nDNA e manifestações fenotípicas cruciais (i) morte celular programada desencadeada e consequente controle da massa tumoral e (ii) Surgimento de células tumorais resistentes.⁵⁵

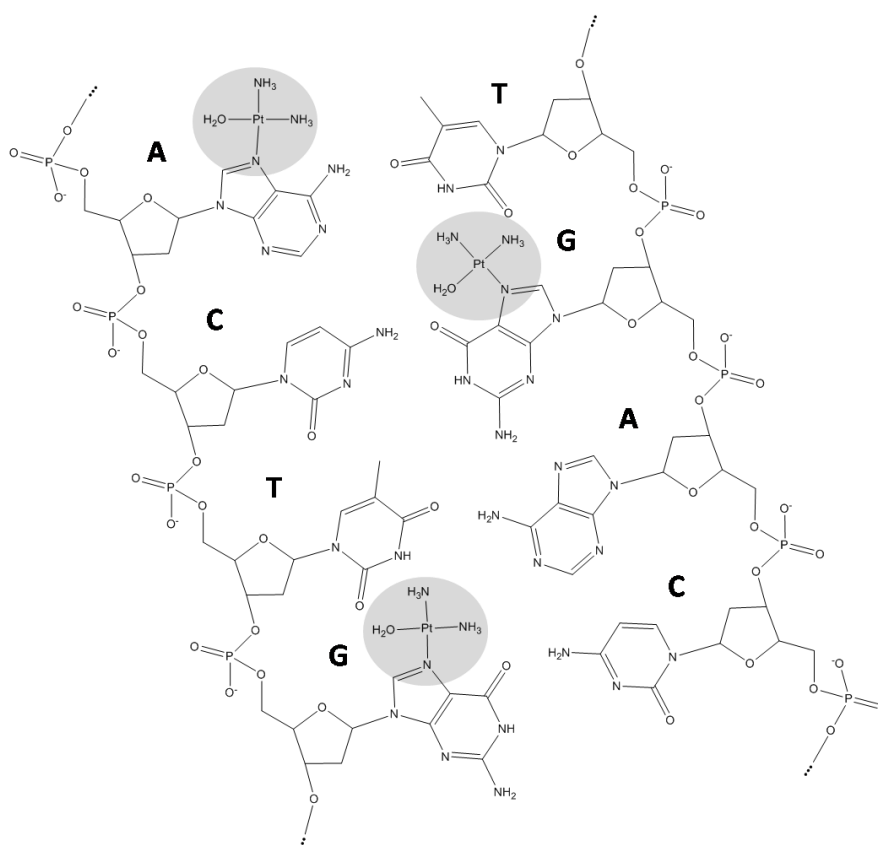


Figura 3. Estrutura simplificada do nDNA (A = adenina, C = citosina, T = timina e G = guanina), complexado à centros platínicos, através do N7 da guanina e da adenina

Tratando-se de manutenção genômica muitas são as referências a respeito da **p53**, sendo esta uma proteína citoplasmática de massa molecular 53 kDa, responsável pelo desencadeamento da expressão de algumas proteínas-MMR, apoptose e senescência celular (envelhecimento celular conduzido à ausência de divisão celular).⁵³⁻⁵⁶ Dessa forma, dada a grande importância da p53 na elucidação de alguns mecanismos do câncer, tornou-se imprescindível a elucidação de suas relações com drogas antitumorais, inclusive a CDDP. Ao evitar a propagação de mutações, as quais poderão ser de caráter maligno, a p53 apresenta-se como uma espécie de avaliador biológico, verificando o quão extensivo é o dano genético e dando sequência à morte celular. A perda da atividade da p53 pode significar a remoção de uma barreira contra o crescimento neoplásico, bem como contribuir para o surgimento da resistência celular tumoral, e em mais de 50 % dos casos de

tumores sólidos humanos, ocorrem mutações nos genes que regulam sua expressão. Diversos podem ser os caminhos para indução da expressão da p53, entretanto um caminho específico mediado pela cisplatina continua sem explicações mais detalhadas.⁵⁷

3. Fatores de Resistência a Fármacos

Existem algumas limitações para a utilização clínica da cisplatina como fatores de resistência à droga e os severos efeitos colaterais associados ao uso do quimioterápico em doses superiores a 50 mg m⁻², tais como a ototoxicidade, neurotoxicidade, destacando-se a nefrotoxicidade, náusea e vômito, mielosupressão e alguns efeitos raros como

danos visuais, doenças repentinas, arritmia, isquemia vascular aguda, intolerância à glicose e pancreatite.⁵⁸ Em todos os pacientes que fazem uso da CDDP, cuja administração em solução fisiológica de cloreto de sódio se dá durante meia a duas horas, é necessário uma completa hidratação antes, durante e após sua administração, aplicação de manitol parenteralmente, para aumentar o fluxo urinário, juntamente com antiemético. O monitoramento das funções renais também é realizado antes e depois da quimioterapia. Em

casos onde o paciente tem que fazer uso do quimioterápico por período longo faz-se uso da carboplatina, apesar de apresentar menor atividade antitumoral a carboplatina possui menos efeitos nefrotóxicos.^{59,60} Esta propriedade da carboplatina foi atribuída à maior estabilidade farmacocinética do seu ligante 1,1-ciclobutanodicarboxilato que torna o complexo mais hidrossolúvel facilitando a administração e eliminação pelo organismo, tornando-o conseqüentemente menos tóxico que a CDDP (Figura 4).⁶¹

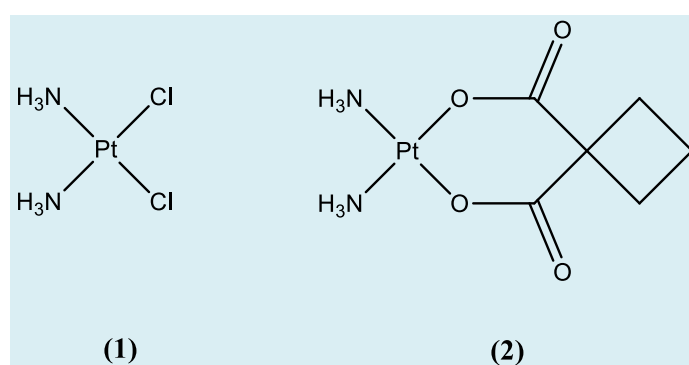


Figura 4. Estruturas químicas da CDDP (1) e da carboplatina (2)

Os efeitos adversos da CDDP são atribuídos às alterações das funções renais, especialmente na indução de danos nos túbulos proximais, causando uma diminuição na capacidade de filtração do rim. Além disso, a nefrotoxicidade provocada pela CDDP é caracterizada por alterações morfológicas, bioquímicas e funcionais.⁶²

A habilidade desenvolvida, por algumas células e organismos, de resistirem aos tratamentos baseados em uma combinação de drogas não relacionadas estruturalmente, e sem quaisquer semelhanças em seus mecanismos de atuação, consiste no termo conhecido como resistência às múltiplas drogas (*Multidrug Resistance* - MDR).⁶³⁻⁶⁷ Este último consiste em um grande problema clínico, uma vez que a insurgência, seja de um agente infeccioso ou de células tumorais, estará contribuindo para maiores limitações dos tratamentos anteriormente dados como

eficazes, e com isso determinando a falha na terapêutica das enfermidades.

No que se refere ao caso do câncer, a doença caracterizando-se por uma instabilidade gênica a qual disponibiliza novas células mutantes, atribuindo-se a essas últimas uma natureza facilitadora para o surgimento do fenômeno MDR, tornam-se os tratamentos oncológicos tentativas cada vez mais ineficazes quanto mais numerosas forem às vias biológicas utilizadas para a expressão dessa resistência. Como por exemplo, os mecanismos utilizados pelo fenômeno MDR pode ser atribuído ao aumento da expressão de proteínas chamadas de transportadores-ABC, [*ATP-binding cassette transporters (ABC-transporters)*] como a P-glicoproteína (Pgp) e de bombas de efluxo como *Multidrug resistance-Associated Protein 1* (MRP1); bem como, ser resultado de uma ativação coordenadamente regulada por algum

sistema de desintoxicação como reparo do DNA e ação de oxidases.⁶⁸⁻⁷³ Os transportadores-ABC desempenham importantes funções reguladoras do organismo, uma vez que controlam a permeabilidade das células, destacando-se a barreira protetora do sistema nervoso central, a barreira hematoencefálica (*Blood-Brain Barrier* - BBB) a qual protege o cérebro de toxinas emergentes do sangue.⁷⁴⁻⁸¹ Sendo o tratamento do câncer caracterizado pela ampla utilização de agentes citotóxicos, não seria de se estranhar o surgimento, por eleição natural, de uma expressão dinâmica aumentada do efluxo das drogas e consequente diminuição do influxo. Dessa forma, além da redução do desempenho da droga pela redução da dose intracelular efetiva, o agente citotóxico poderá estar disponível para reações adversas e efeitos colaterais nos mais variados sítios de interação (sejam pelos compostos iniciais ou modificados). No que se referem aos mais variados tipos de câncer humano, tais como leucemias e tumores sólidos, a expressão de transportadores-ABC como MDR1 e MRP1 está associada à manifestação MDR, resposta à quimioterapia e sobrevivência do paciente. Estudos recentes mostraram que o efluxo de CDDP é dado segundo a expressão de transportadores de cobre ATP7A e ATP7B, os quais são integrantes dos sistemas homeostáticos do cobre, ou seja, estão envolvidos na entrega do cobre às proteínas dependentes dele, enquanto protegem as células de seus efeitos tóxicos.^{82,83}

Através de várias confirmações científicas, percebe-se que ao serem iniciados os regimes quimioterápicos, os compostos citotóxicos disparam diversos mecanismos biológicos de contra-resposta, e, dessa forma encontram-se dois sistemas (i) células normais e (ii) células tumorais diante de uma disputa dependente de processos dinâmicos de reparo e desintoxicação, os quais irão definir, sejam determinados por um funcionamento normal ou por uma ultra-expressão, um balanço final de todas as taxas de processos biológicos envolvidos, manifestadas ao final pela qualidade de vida dos ex-pacientes, ex-

portadores de tumores ou pelos percentuais de taxa de resposta ou de sobrevida média.⁸⁴

4. Biologia Evolutiva Aliada à Pesquisa do Câncer

O uso de novas abordagens terapêuticas para o tratamento do câncer vem sendo discutida pela comunidade científica. Desde 1971, com a campanha da guerra contra o câncer, as taxas de sobrevida dos pacientes portadores de câncer aumentaram de forma inexpressiva, o que acende a questão da necessidade urgente de se rever como o paciente portador de câncer deve ser tratado.⁸⁵ Durante os anos de 1970-80 surge uma nova concepção acerca do surgimento das neoplasias malignas e fatores de resistência como sendo processo de seleção natural e evolução somática celular – Teoria Darwiniana^{4,86-90}. Diante das diversas evidências científicas, as quais sustentam empiricamente a potencialidade das aplicações da teoria Darwiniana, a biologia evolutiva (BE) consiste em uma importante ferramenta a qual pode ser aplicada para o entendimento de muitos aspectos apresentados pelo câncer; sendo assim, dois problemas clínicos como a progressão neoplásica e a resistência terapêutica adquirida poderão ser abordados sob uma nova e diferenciada visão, ou seja, a biologia evolutiva surge como uma nova proposta, capaz de gerar uma maneira racional para o design de drogas que contornem a evolução neoplásica e o surgimento do fenômeno MDR.⁹¹

Mesmo a CDDP sendo aprovada oficialmente em 1978 pelo FDA, Cairns (em 1975) e Nowell (1976) já haviam postulado o surgimento de células tumorais resistentes às drogas mediante evolução somática; ou seja, já era conhecida a necessidade de reflexão acerca da dinâmica Darwiniana. O conhecimento disto deveria atingir de maneira progressista a terapêutica clínico-oncológica, definindo fatores importantes e coadjuvantes para o design de novas

intervenções terapêuticas e políticas de saúde pública capazes de reduzir a incidência de câncer e atrasar ou prevenir a evolução da MDR.^{4,91}

Existem diversas características evolutivas as quais podem descrever o risco de doenças bem como suas manifestações com agravamento; destacando-se entre elas princípios como: (a) a falta de perfeição na engenharia evolutiva, ou seja, muitas opções e caminhos tomados são os melhores disponíveis; (b) a adaptação evolutiva pode não significar a melhor via progressista e (c) a ocorrência da seleção natural será a disputa capaz de testar o sucesso da reprodução e sobrevivência. Referindo-se ao câncer, dois candidatos se apresentam para a disputa, células normais e tumorais, e sendo o segundo competidor portador de mutabilidade genética, a qual poderá habilitá-lo ao desenvolvimento de novas vias de expressão gênica com conseqüente desempenho favorecido para reprodução e manutenção da sobrevivência; consistindo do uso indiscriminado de agentes citotóxicos, e suas combinações, o gatilho de uma competição onde já conhecemos a maior probabilidade de um dos favorecidos cruzarem a linha de chegada.⁹²

Outro fator importante é a genética evolutiva da adaptação, que sugere através da falha no tratamento dos cânceres (dose *versus* paciente) acarretando em uma evolução compensatória, ou seja, ocorre uma rápida recuperação de perdas físicas e energéticas devido à aquisição de mutações de resistência dispendiosas, levando a uma rápida evolução dos tumores.^{93,94}

As adaptações evolutivas do câncer podem ser citadas, como: (i) angiogênese, a qual consiste na capacidade de formação de vascularização, contribuindo para a nutrição do tumor e rotas de escape para metástase; (ii) lesões inflamatórias e metabolismo oxidativo, onde a etapa de promoção da carcinogênese (a promoção) é iniciada através de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio, aumentando a produção de citocinas e quimiocinas; e, (iii) ultra-expressão da

telomerase. Os telômeros são repetições terminais do DNA do tipo (TTAGGG, na espécie humana), os quais podem alcançar de 500 a 15000 dessas repetições.⁹⁵⁻¹⁰⁰ Esses impedem os cromossomos de se fundirem e previnem as perdas de seqüências de pares de bases terminais (próximos a eles). Entretanto, cada vez que a célula se divide, parte dos telômeros é perdida (cerca de 25 a 200 pares de bases), a este processo dá-se o nome de erosão, a qual ocorre cada vez que a célula se divide. A atividade do telômero é regida por dois processos, a erosão e a adição; este último é determinado pela telomerase (telômero terminal transferase), uma enzima contendo subunidades de RNA responsável pelo aumento do comprimento dos cromossomos, adicionando seqüências terminais TTAGGG. Após sucessivas divisões, e conseqüentes erosões, o telômero poderá alcançar um comprimento crítico (muito curto), indicando para o sistema biológico a idade da célula (célula velha), podendo agora definir a apoptose. A atividade da telomerase é muito baixa, o que define para um funcionamento celular normal, condições senescentes; já para as células tumorais, a presença da telomerase é cerca de 85 % maior, quando comparadas às células normais, e a atividade, de 10 a 20 vezes mais efetiva, conduzindo a neoplasia a uma espécie de condição de imortalidade e sempre apta para divisão.⁸⁰

No processo de progressão neoplásica, célula saudável – célula maligna, os preditores para o câncer, que são independentes de genes específicos ou tipos de tumores; incluem instabilidade genética e diversidade genética.¹⁰¹⁻¹⁰⁵ O monitoramento desses atributos das populações celulares podem nos permitir adaptar as intervenções ao atual nível de risco.¹⁰²

Como a progressão neoplásica é um processo de evolução somática, a redução das taxas evolutivas deve diminuir a incidência de câncer. A teoria evolutiva sugere que isso pode ser conseguido reduzindo a taxa de mutação, reduzindo o tamanho efetivo da população de células, aumentando o tempo

de geração das células auto renováveis ou reduzindo a aptidão relativa das mutações carcinogênicas. Uma possibilidade é reduzir a taxa de mutação através de redução terapêutica na exposição a mutagênicos.^{106,107}

A resistência às múltiplas drogas, como dito anteriormente, é um problema importante no tratamento da maioria dos cânceres.^{108,109} Os pacientes frequentemente respondem à aplicação inicial de uma terapia, mas são propensos a recaída, momento em que repetir a mesma terapia raramente é eficaz. A situação é ainda mais grave para os pacientes com câncer metastático, onde a resposta inicial à terapia é prejudicada pela progressão da doença subsequente. Em ambos os casos, é claro que a sensibilidade terapêutica do tumor diminuiu ao longo do tratamento.

Há décadas, Nowell postulou que o surgimento da resistência à droga no câncer foi conduzido pela evolução somática,⁴ uma hipótese para a qual existe agora um apoio empírico substancial. Se a resistência terapêutica adquirida reflete em grande parte uma dinâmica darwiniana, a resolução desta problemática está na concepção de intervenções terapêuticas que reduzam a carga tumoral e retardem ou evitem a evolução da resistência. Se a resistência a diferentes fármacos for conferida por mutações diferentes, a probabilidade de o paciente ter células cancerosas com múltiplas mutações resistentes à terapia combinada é menor do que a probabilidade de ter a mutação necessária para a resistência do agente único. Assim, a terapia de combinação deve resultar em taxas de resposta melhoradas em relação à terapia com agente único e reduzir a probabilidade de recaída.⁸⁴⁻⁸⁹

O desenvolvimento de novos fármacos baseado na teoria da evolução somática da progressão neoplásica e da resistência terapêutica adquirida apresenta diversas vantagens do ponto de vista bioquímico. A alta toxicidade buscada muitas vezes pelos fármacos para o tratamento de células cancerosas não implica em um tratamento eficaz, com altas chances de cura e melhora na sobrevida do paciente. Clinicamente o

objetivo deve estar atrelado à redução da massa tumoral e à obtenção da melhoria do bem-estar do paciente, com vistas a realizar o *design* de quimioterápicos que aumente a mortalidade máxima de células tumorais com uma dose consideravelmente inferior à dose em que a terapia é altamente tóxica para o paciente.¹¹⁶

O uso de fármacos em doses que aceleram a seleção natural, em curto prazo, apresenta baixa probabilidade de um tratamento efetivo em longo prazo. A relação entre respostas terapêuticas a curto e longo prazo depende da extensão da variação fenotípica hereditária na susceptibilidade a citotoxicidade. No caso de não existir tal variabilidade, não há seleção e reduções dramáticas na carga tumoral podem, pelo menos em princípio, ser alcançadas sem significância à resposta evolutiva. Essas considerações sugerem que uma boa estratégia para a realização de um projeto terapêutico contra o câncer eficaz é desenvolver métodos sistemáticos que identifiquem alvos de drogas para as quais a variação hereditária de resistência é mínima.⁹⁰ Um exemplo de fármacos que minimizem a chance de progressão neoplásica e resistência adquirida é os antiangiogênicos. Estes fármacos são terapêuticos bem estabelecidos e apresentaram melhores resultados do que drogas citotóxicas.^{117,118}

Um conceito importante é o de células-tronco cancerígenas capazes de realizar autorrenovação e propagação. Neste conceito a recaída ocorre apenas se as células auto renováveis sobrevivem à terapia.^{119,120} Existem evidências experimentais que sustentem as ideias que os pacientes recaem porque as células-tronco do câncer são inerentemente resistentes à terapia ou porque a terapia selecionada para variantes genéticas ou epigenéticas causa resistência no grupo de células estaminais.

A observação de clones com mutações de resistência e ampliações após a quimioterapia sugere que, nesses casos, a terapia clínica resultou em seleção darwiniana positiva nas células-tronco do câncer.^{93,122-130} Existem também evidências experimentais de que as células-tronco do câncer podem ter: (i)

bombas de efluxo reguladas, que são protegidas por citotoxinas;¹²⁰ (ii) reparo ativo do nDNA e (iii) supressão da apoptose.^{119,120,131} Com isso, as células-tronco do câncer apresentam natureza refratária para a doença.

A hipótese de células estaminais de câncer não é uma alternativa mutuamente exclusiva à teoria da evolução somática da resistência terapêutica adquirida.^{132,133} Além disso, como atualmente articulado, a hipótese de células estaminais de câncer não parece oferecer uma explicação alternativa para progressão neoplásica, expansões clonais ou filogenias de células tumorais. De fato, a questão de saber se a neoplasia inteira ou uma minoria de células neoplásicas é capaz de auto-renovação, pelo menos em parte, uma questão meramente do tamanho efetivo da população das células em evolução em uma neoplasia. Mas, independentemente do componente do tronco ou célula não-esternal ser responsável pela auto-renovação da neoplasia, existe um amplo acordo de que a segmentação terapêutica das células auto renováveis é crucial para o gerenciamento eficaz de doenças.¹²⁸

Outro aspecto crucial a auto renovação da neoplasia maligna, consiste na presença de fragmentos de nDNA livres na corrente sanguínea. Estudos realizados em pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço demonstraram que as células tumorais são capazes de liberar nDNA na circulação, o qual é subsequentemente enriquecido no soro sanguíneo e plasma.¹³⁴ Um indivíduo com câncer pode possuir de 100 a 1000 vezes mais DNA no plasma que um indivíduo saudável. Em 21 pacientes com carcinoma de células escamosas (Head and Neck Squamous Cell Carcinoma – HNSCC) primário, seis deles (29 %) em estágio III ou IV da enfermidade, apresentaram modificações nos microssatélites (DNA presente no soro sanguíneo), cujas modificações apresentaram alta correspondência quando comparadas a um padrão obtido do tumor primário. As modificações são definidas como formação de novos alelos e perda da heterozigidade (loss

of heterozygosity - LOH). O mesmo estudo foi realizado, também com 21 pacientes, agora como portadores de câncer de pulmão primário (Small Cell Lung Carcinoma – SCLC).¹³⁵ Neste último, verificou-se 71 % de modificações nos microssatélites oriundos de amostra do plasma. Diversos pesquisadores sugerem que o DNA liberado no plasma, comporte-se como um corpo infeccioso, consistindo em uma espécie de oncovírus,¹³⁶ sendo transferido tanto para células vizinhas quantos para outros órgãos, definindo-se como um mediador de metástase ou demais tumores primários.^{80,81}

5. Design de Novos Candidatos à Fármacos Dentro da Perspectiva da Biologia Evolutiva

Os compostos de coordenação à base de platina, de uma forma geral, consistem em uma importante classe de quimioterápicos antineoplásicos, tendo em vista sua comercialização mundial,¹³⁷ e ampla atuação frente às mais diversas linhagens tumorais,⁴⁷ até mesmo àquelas resistentes a alguns análogos platínicos tais como cisplatina (CDDP) e carboplatina (CBDCA).¹³⁸

Drogas como CDDP e CBDCA, possibilitam a ocorrência de resistência cruzada devido à dependência em comum de proteínas de correção do emparelhamento (*Mismatch Repair Proteins* – *MMR Proteins*) do nDNA, as quais participam da formação de um complexo Pt-nDNA-MMR, o qual é responsável pelo desencadeamento da apoptose por ambas as drogas; dessa forma, havendo esta dependência quanto à produção das proteínas MMR, e consequente aglomerado biomolecular desencadeador de apoptose, as linhagens tumorais poderão expressar, concomitantemente, sua resistência frente à CDDP e CBDCA, simplesmente, pela redução da produção das proteínas MMR.¹³⁹ Dessa forma, a oxaliplatina, mesmo utilizada em doses equimolares a CDDP, possui uma captação

celular diferenciada (inferior), bem como uma independência quanto à ocorrência das proteínas MMR para desencadear apoptose, tanto nas células tumorais (MMR portadoras) quanto nas tumorais resistentes à CDDP e CBDCA (MMR deficitárias).¹⁴⁰ Dessa forma, através dos argumentos bioquímico-estruturais levantados para a CDDP, CBDCA e Oxaliplatina, ou seja, relações dessas drogas com o fenômeno MDR, tem-se, a princípio, um forte indicativo que o uso indiscriminado desses quimioterápicos antineoplásicos, inclusive em altas dosagens,¹⁴¹ livres de qualquer composição “*drug targeting*” e “*delivery*” biocompatibilizadoras, as quais poderão reduzir a expressão dos efeitos colaterais inerentes à classe desses fármacos antitumorais platínicos,¹⁴² e aliados à expansão clonal natural das células tumorais poderão aumentar drasticamente as taxas de seleção natural da massa tumoral inicialmente submetida aos quimioterápicos em questão,^{4,91,143} ou seja, contribuir para o surgimento precoce de células tumorais, cada vez mais resistentes, durante o período do regime quimioterápico antineoplásico (sugerido clinicamente).

Outro fator, demasiadamente importante e pouco comentado na maioria dos artigos acerca dos quimioterápicos à base de platina, consiste na possibilidade interativa dessas drogas com outros alvos que não sejam nDNA e mtDNA; a exemplo da CDDP, que se liga, coordenativamente, a apenas 5 a 10 % de frações do DNA, enquanto que 75 a 85 % liga-se a proteínas,^{144,145} isto prova que grande parte do “maquinário proteico”, que poderia regular respostas regulatórias anticâncer, inclusive a resposta imunológica eficiente, encontra-se comprometido devido às múltiplas interações cabíveis à esta classe de composto, podendo desencadear processos adaptativos precoces por parte das células tumorais, uma vez que a manutenção bioquímica proteica (enzimas) de ambos os sistemas, células normais e tumorais, encontram comprometidas com novas qualidades de forças (intermoleculares e/ou ligações químicas) estabelecidas agora com os compostos à base de platina, o que pode fatalmente sinalizar uma mudança estrutural

tridimensional, o que significa deficiência ou anulação de funcionalidade por parte desse maquinário proteico antes harmonizado. Ainda com relação a este último aspecto, tem-se postulado que determinados ligantes presentes na primeira esfera de coordenação da platina (II), a exemplo do DACH, são mais susceptíveis para interagir com os domínios proteicos hidrofóbicos, os quais são menos interativos com a CDDP, a qual é mais polarizada.¹⁴⁶ Com isso, a sugestão de cada ligante presente na primeira esfera de coordenação da Pt(II) poderá desencadear níveis de reconhecimento proteicos diferenciados, e consequentes efeitos dinâmicos de captação celular da droga e acionamento da apoptose às propriedades físico-químicas inerentes aos ligantes presentes (escolhidos) para o design do novo protótipo terapêutico.

Dessa forma, torna-se de grande importância a construção de grupos de pesquisa para o tratamento do câncer que incluam, de maneira interdisciplinar, o desenvolvimento de bancos de dados envolvendo o estudo de “interatomas”, de preferência públicos (exemplo similar ao *Protein Data Bank - PDB*),¹⁴⁷ os quais poderiam correlacionar, de maneira quantitativa (através de 3D-QSAR e Docking),¹⁴⁸ todos os parâmetros (fatores) estruturais acerca dos compostos platínicos e: (i) as proteínas MMR, favoráveis à formação dos compostos de coordenação Pt-nDNA-MMR, equacionando este último frente aos fatores pró-apoptóticos e à possibilidade de desencadeamento ou não da resistência cruzada,^{4,149} (ii) as proteínas responsáveis pelo reparo por excisão de nucleotídeo (*Nucleotide Excision Repair Proteins – NER Proteins*), as quais podem ser bioquimicamente demandadas e mais eficientes para uma estrutura particular de agente quimioterápico platínico e seu composto de coordenação envolvendo uma estrutura particular com o nDNA (Pt-nDNA); (iii) as bombas de efluxos ABC ATP-dependentes (ATP7A e ATP7B), as quais estão associadas aos fatores de resistência das células tumorais mais habilitadas à exportação citoplasmática da CDDP, ou seja, diminuem a dose intracelular efetiva desse

fármaco;^{150,151} (iv) os canais iônicos HERG, podendo causar arritmias cardíacas (aumentando o intervalo QT no eletrocardiograma), bem como facilitar a ocorrência de morte súbita cardíaca.¹⁵²

A redução da toxicidade dos compostos quimioterápicos, de uma forma geral, não apenas os que são à base de platina; significa um ganho, do ponto de vista da biologia evolutiva (BE). Em outras palavras, esta redução não contribui para o aumento das taxas de seleção natural entre as células tumorais durante o regime quimioterápico adotado, tendo em vista que a maioria dos compostos utilizados com essa finalidade terapêutica e sem nenhuma estratégia “*drug Targeting*” e “*delivery*” biocompatibilizadora atuam eliminando as células tumorais mais susceptíveis à apoptose, propiciando o surgimento mais rápido das resistentes. Dessa forma, algumas sugestões descritas na literatura¹⁵³ que consideram o uso racional de ligantes carreadores do centro ácido metálico de Pt(II), cujo composto de coordenação foi estudado mediante utilização da voltametria cíclica, verificou-se que quando o candidato a protótipo antineoplásico apresentava um potencial catódico (potencial que expressa a capacidade da espécie se reduzir) bem mais negativo para se reduzir, neste caso específico por volta de -0,82 V, enquanto que para a carboplatina e cisplatina¹⁵⁴ a redução inicia-se por volta de -0,76 V e -0,63 V, respectivamente, o composto além da confirmada estabilidade eletroquímica, o mesmo não ocasionava danos oxidativos nefrológicos (néfrite) ao modelo animal utilizado (camundongo – *mus musculus*), ou seja, a escolha de ligantes menos tóxicos e que contribuam para uma maior estabilidade eletroquímica do composto de coordenação à base de platina pode significar em compostos menos nefrotóxicos (menores danos oxidativos e diminuição da geração de espécies reativas de oxigênio - ROS).

A BE, certamente, deve ser uma base influenciadora forte a ser considerada e, definitivamente, incrementada às estratégias de melhoramento da eficácia não apenas dos

compostos de platina, mas de todas as classes de quimioterápicos antineoplásicos. Alguns trabalhos da literatura,¹⁵⁵⁻¹⁶⁰ os quais apontam como inovações terapêuticas os sistemas carreadores de fármacos (“*drug targeting*” e “*delivery*”), já constataram que a toxicidade excessiva dos compostos de platina (mono ou polinucleares), pode comprometer a eficácia do tratamento antitumoral uma vez que a ausência de uma composição à base de uma matriz polimérica e/ou lipossomal, por exemplo, possibilita que a droga agora possua uma ampla interação com as proteínas do plasma e tecidos, desencadeando de forma acelerada a inativação da droga; em outras palavras, essa formulação disponibiliza uma alternativa multi-interativa para os compostos de platina, os quais ficarão dificultados para se acomodarem com maior facilidade na albumina (presente no soro sanguíneo), não irão se ligar nos sítios ativos e/ou alostéricos, bem como nos domínios proteicos repletos de enxofre (como base de *Lewis*) evitando assim a mudança estrutural (tridimensional) e consequente diminuição ou até mesmo perda de funcionalidade, o que poderá acelerar o processo de seleção natural das células tumorais, como contra partida adaptativa a este novo incremento de toxicidade, surgindo assim o fenômeno MDR, agora guiado pela exaustiva imposição toxicológica do regime quimioterápico adotado (ausente de quaisquer estratégias “*drug Targeting*” e “*delivery*”).

Tomando-se alguns aspectos fenotípicos da evolução somática natural das células tumorais, entre os quais podemos citar: (i) maior distribuição dos reconhedores de folato e super-expressão dos mesmos;¹⁶¹ e (ii) aumento da distribuição de lectinas,¹⁶² que são proteínas especializadas no reconhecimento (ligação) de carboidratos, na superfície celular; algumas estratégias para o design de fármacos antitumorais à base de platina podem ser tomadas utilizando-se o que chamamos de “Princípio Isca-Anzol” (Princípio IA), o qual se faz valer do interatoma natural das células tumorais, a nível de reconhecimento molecular imposto pela evolução fenotípica que lhe é inerente. O

princípio IA baseia-se nos próprios processos dinâmicos de reconhecimento e de transporte molecular da célula tumoral, devendo o candidato terapêutico ser portador, obrigatoriamente, das seguintes características para a Isca e para o Anzol (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição das características pertinentes ao “Princípio Isca-Anzol”.

Características	
Isca	Matriz homo ou hetero-polimérica, solúvel em água, com baixa toxicidade ou atóxica, portadora de atividade antitumoral ou não, composta por unidades monoméricas reconhecíveis pelos receptores celulares, os quais se encontram em maiores distribuições na superfície das células tumorais e super-expressos. Essa matriz deve também ser capaz de se ligar ou interagir com o composto quimioterápico antineoplásico (Anzol), acomodando-o em sua estrutura polimérica.
Anzol	Composto quimioterápico antineoplásico, utilizado em doses molares inferiores às previstas em ensaios toxicológicos, devendo este ser alvo de um estudo de interatomas prévio, viabilizando o melhor “candidato terapêutico”, mediante argumentos levantados pela BE.

Diante do exposto na Tabela 3; diversos compostos surgem como candidatos à isca, a exemplo dos polissacarídeos, polissacarídeos modificados com ácido fólico, glicoproteínas, glicolipídeos, lecitinas modificadas com polissacarídeos ou carboidratos, não descartando os polipeptídeos, lipoproteínas e proteínas, bem como variantes poliméricas cujas modificações consistam em incremento estrutural à base de carboidratos, ácido fólico ou folato, colato, carboidratos modificados.

Algumas matrizes polissacarídicas, além de serem excelentes candidatos à isca, surgem como inovação terapêutica promissora,^{163,164} a exemplo disso, tem-se a levana e seus derivados,¹⁶⁵⁻¹⁶⁹ cuja utilização singular como antitumoral¹⁷⁰ ou combinada a quimioterápico à base de platina,¹⁷¹ desencadeiam a apoptose de células tumorais,⁶⁰ podendo reduzir o perfil toxicológico de drogas quando utilizada em conjunto.^{53, 63} A levana consiste em homopolissacarídeo bacteriano, formado basicamente por unidades de frutose cujas ligações são do tipo $\beta(2\rightarrow6)$ e com ramificações ocasionais do tipo $\beta(2\rightarrow1)$. A levana além de possuir os requisitos de uma boa isca para as células tumorais, as quais apresentam uma coletânea de lectinas

reconhecedoras de carboidratos, a utilização dessa matriz polimérica conjugada aos fármacos platínicos inviabiliza a disponibilidade desses compostos de coordenação para as diversas sinalizações negativas no organismo submetido ao regime quimioterápico que se utilize desse homopolissacarídeo frutósido, e conseqüente expressão dos efeitos colaterais concomitante com o surgimento do fenômeno de resistência.

Dessa forma, seguindo-se os preceitos apresentados anteriormente, tem-se uma coletânea de estratégias inovadoras as quais poderão viabilizar o design de fármacos mais eficientes, os quais poderão apresentar maiores percentuais de inibição de massas tumorais e menores expressões de efeitos colaterais, não comprometendo, assim, a qualidade de vida dos portadores de câncer.

6. Considerações Finais

Com base em toda fundamentação biológica levantada acerca dos compostos de platina desde a descoberta serendipiosa da CDDP, por *Rosenberg*, até a atualidade, a

comunidade científica depara-se com vasto material bibliográfico comprobatório que pode viabilizar o design de fármacos à base de platina menos tóxicos e mais eficientes, os quais devem ser influenciados pelos fundamentos apresentados pela biologia evolutiva, devendo garantir uma maior eficácia do regime quimioterápico antineoplásico, quer seja um protótipo platinico (mono ou polinuclear) ou formulações que se utilizem de inovações “*drug Targeting*” e “*delivery*”, podendo essas últimas serem complementadas pelo “Princípio Isca-Anzol”, uma vez que as células tumorais possuem uma maior distribuição e super-expressão de alguns receptores, entre os quais podemos citar as lectinas e receptores de folato, fazendo com que esse sistema celular maligno, que já se destaca pela maior dinâmica dos processos de reconhecimento e transporte molecular, sinalize agora um aumento da captação do fármaco, diminuindo assim os efeitos colaterais e as taxas de seleção natural, conseqüentemente, o surgimento do fenômeno MDR poderá ser retardado. A utilização do “Princípio Isca-Anzol” poderá ser um fator determinante para o surgimento de composições terapêuticas habilitadas a reduzir os efeitos colaterais ou até mesmo “silenciá-los” (baixar drasticamente a expressão tóxica) durante um regime quimioterápico antineoplásico. Também vale salientar que a união multidisciplinar de vários grupos de pesquisa poderá contribuir de maneira robusta para o estudo de interatomas, envolvendo drogas antitumorais e o “maquinário bioquímico” das células normais e tumorais, devendo assim viabilizar para a comunidade científica mundial, novos aspectos direcionadores de regimentos quimioterápicos menos danosos aos portadores de câncer. Conforme o estudo de interatomas avance, e o mesmo possibilite a criação de um banco de dados para essa temática, os aspectos para o design de fármacos antitumorais poderão agora apresentar novas características quantitativas capazes de correlacionar toxicidade e taxas de seleção natural com os percentuais de inibição

tumoral, não apresentando somente uma visão imediata que a maioria dos estudos de compostos antitumorais o faz; a qual consiste em mensurar apenas o aspecto antiproliferativo (*in vitro* ou *in vivo*), sem que haja uma discussão (previsibilidade ou perspectiva) acerca do desencadeamento do fenômeno MDR, cujo surgimento leva ao insucesso qualquer regimento quimioterápico antineoplásico, mesmo que os fármacos adotados não apresentem qualquer correlação estrutural. Influenciado pela biologia evolutiva, o foco das pesquisas científicas agora não serão apenas os desempenhos antiproliferativos dos protótipos antitumorais, mas também a previsibilidade da qualidade de vida dos pacientes portadores de câncer que estão sujeitos aos regimes quimioterápicos que, comprovadamente, desencadeiam o fenômeno MDR precocemente, e cujos fármacos adotados, em doses específicas (na forma singular ou em “coquetéis”), são determinantes para a expressão dos efeitos colaterais nesses pacientes, a exemplo disso, ainda se constata, clinicamente, que determinados regimentos quimioterápicos adotados são responsáveis diretos pela causa de óbitos, mesmo que em um percentual diminuto (pequeno) em relação ao número total de pacientes submetidos a este mesmo regimento, e não a progressão da enfermidade em si.^{172,173}

Referências Bibliográficas

- ¹ Stewart, B. W.; Wild, C. P.; *World Cancer Report: 2014*. World Health Organization. [\[Link\]](#)
- ² Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil. [\[Link\]](#)
- ³ Vogelstein, B.; Kinzler, K. W. The multistep nature of cancer. *Trends in Genetics* **1993**, *9*, 138. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

- ⁴ Nowell, P. C. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* **1976**, *194*, 23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵ Kern, S. E. Clonality: More Than Just a Tumor-Progression Model. *Journal of the Nacional Cancer Institute* **1993**, *85*, 1020. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶ de Almeida, V. L.; Leitão, A.; Reina, L. C. B.; Montanari, C. A.; Donnici, C. L.; Lopes, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Química Nova* **2005**, *28*, 118. [[CrossRef](#)]
- ⁷ Franco, E. L.; Rohan, T. E. *Cancer Precursors: Epidemiology, Detection, and Prevention*, 1a. ed., Springer-Verlag: New York, 2002.
- ⁸ Yuspa, S. H. Overview of Carcinogenesis: Past, Present and Future. *Carcinogenesis* **2000**, *21*, 341. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹ Hananan, D.; Weinberg, R. A. The Hallmarks of Cancer. *Cell* **2000**, *100*, 57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰ Yuspa, S. H; Poirier, M. C. Chemical carcinogenesis: from animal models to molecular models in one decade. *Advances in Cancer Researches* **1988**, *50*, 25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹ Keskin, O.; Bahar, I.; Jernigan, R. L.; Beutler, J. A.; Shoemaker, R. H.; Sausville, E. A.; Covell, D. G. Characterization of anticancer agents by their growth inhibitory activity and relationships to mechanism of action and structure. *Anti-cancer Drug Design* **2000**, *15*, 79. [[PubMed](#)]
- ¹² Avendaño, C.; Menéndez, J. C.; *Em Medicinal chemistry of anticancer drugs*, Elsevier: Amsterdã, 2008, cap. 5. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Bernard, C. Platinum group metal compounds in cancer chemotherapy. *Johnson Matthey Technology Review* **2017**, *61*, 52. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Ali, I.; Wani, W. A.; Saleem, K.; Haque, A. Platinum compounds: a hope for future cancer chemotherapy. *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry* **2013**, *13*, 296. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Marschner, N.; Arnold, D.; Engel, E.; Hutzschenreuter, U.; Rauh, J.; Freier, W.; Hartmann, H.; Frank, M.; Jänicke, M. Oxaliplatin-based first-line chemotherapy is associated with improved overall survival compared to first-line treatment with irinotecan-based chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer - Results from a prospective cohort study. *Clinical Epidemiology* **2015**, *20*, 295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Shimada, M.; Itamochi, H. Kigawa, J. Nedaplatin: a cisplatin derivate in cancer chemotherapy. *Cancer Management and Research* **2013**, *8*, 67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁷ Natori, A.; Ethier, J.; Amir, E.; Cescon, D. W. Capecitabine in early breast câncer: a meta-analysis of randomised controlled trials. *European Journal of Cancer* **2017**, *77*, 40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ Housman, G.; Byler, S.; Heerboth, S.; Lapinska, K.; Longacre, M.; Snyder, N.; Sarkar, S. Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancers* **2014**, *6*, 1769. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Liang, M. I.; Huh, W. K. Financial toxicity – An overlooked side effect. *Gynecologic Oncology* **2018**, *150*, 3. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Teixeira, M. Z. Rebound effects of modern drugs: serious adverse events unknow by health professionals. *Revista da Associação Médica Brasileira* **2013**, *59*, 629. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Kauffman, G. B.; Pentimalli, R.; Doldi, S.; Hall, M. D. Michele Peyrone (1813-1883), Discoverer of Cisplatin. *Platinum Metals Review* **2010**, *54*, 250. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L.; *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, 4a ed., HarperCollins College Publisher: New York, 1993.
- ²² Rosenberg, B.; Vancamp, L.; Krigas, T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature* **1965**, *205*, 698. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Rosenberg, B. Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy.

- Naturwissenschaften* **1973**, *60*, 399. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Carpinelli, P.; Bartolucci, S.; Ruffo, F. Synthesis and biological activity of five-coordinate platinum (II) complexes including organotin fragments. *Anti-Cancer Drug Design* **1995**, *10*, 43. [[PubMed](#)]
- ²⁵ Köpf-Maier, P.; Köpf, H. Non-platinum group metal antitumor agents. History, current status, and perspectives. *Chemical Reviews* **1987**, *87*, 1137. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ Thompson, A. J.; Williams, R. J. P.; Reslova, S. Em *Structure and Bonding*; Thompson, A. J.; Williams, R. J. P.; Reslova, S.; Wood, J. M.; Brown, D. G.; Bray, R. C.; Swann, J. C.; Neilands, J. B., eds.; Springer: Berlin, 1972, cap 1.
- ²⁷ Calamai, P.; Carotti, S.; Mazzei, T.; Messori, L.; Mini, E.; Orioli, P.; Speroni, G. P. Cytotoxic effects of gold (III) complexes on established human tumor cell lines sensitive and resistant to cisplatin. *Anti-Cancer Drug Design* **1998**, *13*, 67. [[PubMed](#)]
- ²⁸ 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* **2016**, *116*, 3436. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Miltenburg, N. C.; Boogerd, W. Chemotherapy-induced neuropathy: A comprehensive survey. *Cancer Treatment Reviews* **2014**, *40*, 872. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Cavaletti, G.; Tredici, G.; Marmiroli, P.; Petruccioli, M. G.; Barajon, I.; Fabbrica, D. Morphometric study of the sensory neuron and peripheral nerve changes induced by chronic cisplatin (DDP) administration in rats. *Acta Neuropathologica* **1992**, *84*, 364. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Grolleau, F.; Gamelin, L.; Boisdron-Celle, M.; Lapied, B.; Pelhate, M.; Gamelin, E. A possible explanation for a neurotoxic effect of the anticancer agent oxaliplatin on neuronal voltage-gated sodium channels. *Journal of Neurophysiology* **2001**, *85*, 2293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² dos Santos, N. A. G.; Rodrigues, M. A. C.; Martins, N. M.; dos Santos, A. C. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. *Archives of Toxicology* **2012**, *86*, 1233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Pabla, N.; Dong, Z. Cisplatin nephrotoxicity: Mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney International* **2008**, *73*, 994. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁴ Sánchez-González, P. D.; López-Hernández, F. J.; López-Novoa, J. M.; Morales, A. I. An integrative view of the pathophysiological events leading to cisplatin nephrotoxicity. *Critical Reviews in Toxicology* **2011**, *41*, 803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Strauss, M.; Towfighi, J.; Lord, S.; Lipton, A.; Harvey, H. A.; Brown, B. Cis-platinum ototoxicity: clinical experience and temporal bone histopathology. *The Laryngoscope* **1983**, *93*, 1554. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁶ Schaefer, S. D.; Post, J. D.; Close, L. G.; Wright, C. G. Ototoxicity of low- and moderate-dose cisplatin. *Cancer* **1985**, *56*, 1934. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁷ Laurell, G.; Jungnelius, U. High-dose cisplatin treatment: hearing loss and plasma concentrations. *The Laryngoscope* **1990**, *100*, 724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁸ Kopelman, J.; Budnick, A. S.; Sessions, R. B.; Kramer, M. B.; Wong, G. Y. Ototoxicity of high-dose cisplatin by bolus administration in patients with advanced cancers and normal hearing. *The Laryngoscope* **1988**, *98*, 858. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁹ Clerici, W. J.; Hensley, K.; DiMartino, D. L.; Butterfield, D. A. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hearing Research* **1996**, *98*, 116. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Labbé, D.; Teranishi, M. A.; Hess, A.; Bloch, W.; Michel, O. Activation of caspase-3 is associated with oxidative stress in the hydrophobic guinea pig cochlea. *Hearing Research* **2005**, *202*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ⁴¹ Rybak, L. P.; Ravi, R.; Somani, S. M. Mechanism of protection by diethyldithiocarbamate against cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Toxicological Sciences* **1995**, *26*, 293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Cleare, M. J.; Hoeschele, J. D.; Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes. Part I. Platinum (II) complexes. *Bioinorganic Chemistry* **1973**, *2*, 187. [[CrossRef](#)]
- ⁴³ Gately, D. P.; Howell, S. B. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. *British Journal of Cancer* **1993**, *67*, 1171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Andrews, P. A.; Howell, S. B. Cellular pharmacology of cisplatin: perspectives on mechanisms of acquired resistance. *Cancer Cells* **1990**, *2*, 35. [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Timmer-Bosscha, H.; Mulder, N. H.; de Vries, E. G. Modulation of cis-diamminedichloroplatinum (II) resistance: a review. *British Journal of Cancer* **1992**, *66*, 227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Kelland, L. R.; Farrell, N. P.; *Platinum-Based Drugs in Cancer Therapy*, 1a ed., Humana Press Inc: New Jersey, 2000.
- ⁴⁷ Bhushan, A.; Wroblewski, D.; Xuan, Y.; Tritton, T. R.; Hacker, M. P. Correlation of altered tyrosine phosphorylation with methotrexate resistance in a cisplatin-resistant subline of L1210 cells. *Biochemical Pharmacology* **1996**, *51*, 477. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ Xuan, Y.; Hacker, M. P.; Bhushan, A. Modulation of methotrexate resistance by genistein in murine leukemia L1210 cells. *Oncology Reports* **1998**, *5*, 419. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ Mamenta, E. L.; Poma, E. E.; Kaufmann, W. K.; Delmastro, D. A.; Grady, H. L.; Chaney, S.G. Enhanced replicative bypass of platinum-DNA adducts in cisplatin-resistant human ovarian cell lines. *Cancer Research* **1994**, *54*, 3500. [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Modrich, P. Strand-specific mismatch repair in mammalian cells. *The Journal of Biological Chemistry* **1997**, *272*, 24727. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Fink, D.; Aebi, S.; Howell, S. B. The role of DNA mismatch repair in drug resistance. *Clinical Cancer Research* **1998**, *4*, 1. [[PubMed](#)]
- ⁵² Agarwall, M. L.; Taylor, W. R.; Chernov, M. V.; Chernova, O. B.; Stark, G. R. The p53 network. *The Journal of Biological Chemistry* **1998**, *273*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Ko, L. J.; Prives, C. p53: puzzle and paradigm. *Genes & Development* **1996**, *10*, 1054. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Levine, A. J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* **1997**, *88*, 323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁵ Weller, M. Predicting response to cancer chemotherapy: the role of p53. *Cell and Tissue Research* **1998**, *292*, 435. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁶ Lowe, S. W.; Cancer therapy and p53. *Current Opinion in Oncology* **1995**, *7*, 547. [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Loehrer, P. J.; Einhorn, L. H.; Drugs five years later. Cisplatin. *Annals of Internal Medicine* **1984**, *100*, 704. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁸ Harrap, K. R.; Initiatives with platinum- and quinazoline-based antitumor molecules – Fourteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Research* **1995**, *55*, 2761. [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Connors, T. A.; Jones, M. Ross, W. C. J.; Braddock, P. D.; Khokhar, A. R. Tobe, M. L. New platinum complexes with anti-tumour activity. *Chemico-Biological Interactions* **1972**, *5*, 415. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁰ Hah, S. S.; Stivers, K. M.; de Vere White, R. W.; Henderson, P. T. Kinetics of carboplatin-DNA binding in genomic DNA and bladder cancer cells as determined by accelerator mass spectrometry. *Chemical Research in Toxicology* **2006**, *19*, 622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹ Miller, R. P.; Tadagavadi, R. K.; Ramesh, G.; Reeves, W. B. Mechanisms of Cisplatin

- Nephrotoxicity. *Toxins* **2010**, *2*, 2490. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶² Bolhuis, H.; van Veen, H. W.; Poolman, B.; Driessen, A, J.; Konings, W. N. Mechanisms of multidrug transporters. *FEMS Microbiology Reviews* **1997**, *21*, 55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶³ Baguley, B. C.; Marshall, E. S. The use of human tumour cell lines in the discovery of new cancer chemotherapeutic drugs. *Expert Opinion on Drug Discovery* **2008**, *3*, 153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁴ Meads, M. B.; Hazlehurst, L. A.; Dalton, W. S. The bone marrow microenvironment as a tumor sanctuary and contributor to drug resistance. *Clinical Cancer Research* **2008**, *14*, 2519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁵ Huls, M.; Russel, F. G.; Masereeuw, R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2009**, *328*, 3. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁶ Turco, M. C.; Romano, M. F.; Petrella, A.; Bisogni, R.; Tassone, P.; Venutta, S. NF- κ B/Rel-mediated regulation of apoptosis in hematologic malignancies and normal hematopoietic progenitor. *Leukemia* **2004**, *18*, 11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁷ Kimura, Y.; Morita, S.Y.; Matsuo, M.; Ueda, K. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Science* **2007**, *98*, 1303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁸ Sharon, F. J. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics* **2008**, *9*, 105. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁹ Dassa, E.; Bouige, P. The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms. *Research in Microbiology* **2001**, *152*, 211. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁰ Szakács, G.; Peterson, J. K.; Ludwig, J. A. Booth-Genthe, C.; Gottesman, M.M. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nature Reviews. Drug Discovery* **2006**, *5*, 219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷¹ Higgins, C. F. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance. *Nature* **2007**, *446*, 749. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷² ⁷³ Juliano, R. L.; Ling, V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et biophysica acta* **1976**, *455*, 152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷³ Gottesman, M. M.; Ling, V. The molecular basis of multidrug resistance in cancer: The early years of P-glycoprotein research. *FEBS Letters* **2006**, *580*, 998. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁴ Loo, T. W.; Clarke, D. M. Recent progress in understanding the mechanism of P-glycoprotein-mediated drug efflux. *The Journal of Membrane Biology* **2005**, *206*, 173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁵ Vaalburg, W.; Hendrikse, N. H.; Elsinga, P. H.; Bart, J.; van Waarde, A. P-glycoprotein activity and biological response. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2005**, *207*, 257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁶ Chinn, L. W. ABCB1 pharmacogenetics: progress, pitfalls, and promise. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* **2007**, *81*, 265. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁷ Hennessy, M.; Spiers, J. P. A primer on the of P-glycoprotein the multidrug transporter. *Pharmacological Research* **2007**, *55*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁸ Callaghan, R.; Crowley, E.; Potter, S.; Kerr, I. D. P-glycoprotein: so many ways to turn it on. *Journal of Clinical Pharmacology* **2008**, *48*, 365. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁹ Lin, T.; Islam, O.; Heese, K. ABC transporters, neural stem cells and neurogenesis – a different perspective. *Cell Research* **2006**, *16*, 857. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁰ Sarkadi, B.; Homolya, L.; Szakács, G.; Váradi, A. Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoimmunity defense system. *Physiological Reviews* **2006**, *86*, 1179. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸¹ Culotta, V. C.; Lin, S. J.; Schmidt, P.; Klomp, L. W.; Casareno, R. L; Gitlin, J. Intracellular

- pathways of copper trafficking in yeast and humans. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **1999**, *448*, 257 [CrossRef] [PubMed]
- ⁸² Safaei, R.; Otani, S.; Larson, B. J.; Rasmussen, M. L. Howell, S. B. Transport of cisplatin by the copper efflux transporter ATP7B. *Molecular Pharmacology* **2008**, *73*, 461. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸³ Burger, H.; Loos, W. J.; Eechoute, K.; Verweij, J.; Marthijssen, R. H. J.; Wiemer, E. A. C. Drug transporters of platinum-based anticancer agents and their clinical significance. *Drug Resistance Updates* **2011**, *14*, 22. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸⁴ Espey, D. K.; Wu, X. C.; Swan, J.; Wiggins, C.; Jim, M. A.; Ward, E.; Wingo, P. A.; Howe, H. L.; Ries, L. A.; Miller, B. A.; Jemal, A.; Ahmed, F.; Cobb, N.; Kaur, J. S.; Edwards, B. K. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2004, featuring cancer in american indians and Alaska natives. *Cancer* **2007**, *110*, 2119. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸⁵ Frank, S. A.; Nowak, M. A. Problems of somatic mutation and cancer. *BioEssays* **2004**, *26*, 291. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸⁶ Crespi, B.; Summers, K. Evolutionary biology of cancer. *Trends in Ecology & Evolution* **2005**, *20*, 545. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸⁷ Maley, C. C.; Reid, B. J.; Forrest, S. Cancer prevention strategies that address the evolutionary dynamics of neoplastic cells: simulating benign cell boosters and selection for chemosensitivity. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **2004**, *13*, 1375. [PubMed]
- ⁸⁸ Merlo, L. M.; Pepper, J. W.; Reid, B. J.; Maley, C. C. Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews. Cancer* **2006**, *6*, 924. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸⁹ Greaves, M. Darwinian medicine: a case for cancer. *Nature Reviews. Cancer* **2007**, *7*, 213. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁰ Cairns, J. Mutation selection and the natural history of cancer. *Nature* **1975**, *15*, 197. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹¹ Williams, G. C. Pleiotropy, natural selection and the evolutions of senescence. *Evolution* **1957**, *11*, 398. [CrossRef]
- ⁹² Shah, N. P.; Skaggs, B. J.; Branford, S.; Hughes, T. P.; Nicoll, J. M.; Paquette, R. L.; Sawyers, C. L. Sequential ABL kinase inhibitor therapy selects for compound drug-resistant BCR-ABL mutations with altered oncogenic potency. *The Journal of Clinical Investigation* **2007**, *117*, 2562. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹³ Kassen, R.; Bataillon, T. Distribution of fitness effects among beneficial mutations before selection in experimental populations of bacteria. *Nature Genetics* **2006**, *38*, 484. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁴ Rudolph, K. L.; Chang, S.; Lee, H. W.; Blasco, M.; Gottlieb, G. J.; Greider, C.; DePinho, R. A. Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell* **1999**, *96*, 701. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁵ Greaves, M. Is telomerase activity in cancer due to selection of stem cells and differentiation arrest? *Trends in Genetics* **1996**, *12*, 127. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁶ Balkwill, F.; Charles, K. A.; Mantovani, A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell* **2005**, *7*, 211. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁷ Coussens, L. M.; Werb, Z. Inflammation and cancer. *Nature* **2002**, *420*, 860. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁸ Carmeliet, P. Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine* **2003**, *9*, 653. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁹ Folkman, J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Seminars in Oncology* **2002**, *29*, 15. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰⁰ Maley, C. C.; Galipeau, P. C.; Li, X.; Sanchez, C. A.; Paulson, T. G.; Blount, P. L.; Reid, B. J. The combination of genetic instability and clonal expansion predicts progression to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Research* **2004**, *64*, 7629. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰¹ Galipeau, P. C.; Li, X.; Blount, P. L.; Maley, C. C.; Sanchez, C. A.; Odze, R. D.; Ayub, K.; Rabinovitch, P. S.; Vaughan, T. L.; Reid, B. J. NSAIDs Modulate CDKN2A, TP53, and DNA

- Content Risk for Progression to Esophageal Adenocarcinoma. *PLoS Medicine* **2007**, *4*, e67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰² Maley, C. C.; Galipeau, P. C.; Li, X.; Sanchez, C. A.; Paulson, T. G.; Reid, B. J. Selectively advantageous mutations and hitchhikers in neoplasms: p16 lesions are selected in Barrett's esophagus. *Cancer Research* **2004**, *64*, 3414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰³ Maley, C. C.; Galipeau, P. C.; Finley, J. C.; Wongsurawat, V. J.; Li, X.; Sanchez, C. A.; Paulson, T. G.; Blount, P. L.; Risques, R. A.; Rabinovitch, P. S.; Reid, B. J. Genetic clonal diversity predicts progression to esophageal adenocarcinoma. *Nature Genetics* **2006**, *38*, 468. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁴ Heng, H. H. Cancer genome sequencing the challenges ahead. *BioEssays* **2007**, *29*, 783. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁵ Boland, C. R.; Goel, A. Somatic evolution of cancer cells. *Seminars in Cancer Biology* **2005**, *15*, 436. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁶ Misra, N.; Szczurek, W.; Vingron, M. Inferring the paths of somatic evolution in cancer. *Bioinformatics* **2014**, *17*, 2456. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁷ Moscow, J.; Morrow, C. S.; Cowan, K. H. *Em Holland-Frei Cancer Medicine*, Moscow, J.; Schneider, E.; Sikic, B. I.; Morrow, C. S.; Cowan, K. H.; eds.; Hamilton (ON): BC Decker, 2003, cap 48.
- ¹⁰⁸ O'Connor, R.; Clynes, M.; Dowling, P.; O'Donovan, N.; O'Driscoll, L. Drug resistance in cancer - searching for mechanisms, markers and therapeutic agents. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* **2007**, *3*, 805. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁹ Carrick, S.; Parker, S.; Thornton, C. E.; Ghera, D. Simes, J.; Wilcken, N. Single agent versus combination chemotherapy for metastatic breast cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* **2009**, *2*, CD003372. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁰ Delbaldo, C.; Michiels, S.; Syz, N.; Soria, J. C.; Le Chevalier, T.; Pignon, J. P.; Benefits of adding a drug to a single-agent or a 2-agent chemotherapy regimen in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association* **2004**, *292*, 470. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹¹ Gottesman, M. M.; Fojo, T.; Bates, S. E.; Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nature Reviews Cancer* **2002**, *2*, 48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹² Dowsett, M.; Bundred, N. J.; Decensi, A.; Sainsbury, R. C.; Lu, Y.; Hills, M. J.; Cohen, F. J.; Veronesi, P.; O'Brien, M. E.; Scott, T.; Muchmore, D. B. Effect of raloxifene on breast cancer cell Ki67 and apoptosis: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial in postmenopausal patients. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **2001**, *10*, 961. [[PubMed](#)]
- ¹¹³ Bursch, W.; Ellinger, A.; Kienzl, H.; Török, L.; Pandey, S.; Sikorska, M. Walker, R.; Hermann, R. S. Active cell death induced by the anti-estrogens tamoxifen and ICI 164 384 in human mammary carcinoma cells (MCF-7) in culture: the role of autophagy. *Carcinogenesis* **1996**, *17*, 1595. [[PubMed](#)]
- ¹¹⁴ Mandlekar, S.; Kong, A. N. Mechanisms of tamoxifen-induced apoptosis. *Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death* **2001**, *6*, 469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁵ Hartmann, J. T.; Lipp, H. P. Toxicity of platinum compounds. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* **2005**, *4*, 889. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁶ Pepper, J. W. Defeating pathogen drug resistance: guidance from evolutionary theory. *Evolution; International Journal of Organic Evolution* **2008**, *62*, 3185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁷ Boehm, T.; Folkman, J.; Browder, T.; O'Reilly, M. S. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* **1997**, *390*, 404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁸ Costello, R. T.; Mallet, F.; Gaugler, B.; Sainty, D.; Arnoulet, C.; Gastaut, J.A.; Olive, D. Human acute myeloid leukemia CD34+/CD38-progenitor cells have decreased sensitivity to chemotherapy and Fas-induced apoptosis,

- reduced immunogenicity, and impaired dendritic cell transformation capacities. *Cancer Research* **2000**, *60*, 4403. [[PubMed](#)]
- ¹¹⁹ Dean, M.; Fojo, T.; Bates, S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nature Reviews. Cancer* **2005**, *5*, 275. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁰ Lobo, N. A.; Shimono, Y.; Qian, D.; Clarke, M. F. The Biology of Cancer Stem Cells. Annual Review of Cell and Developmental **2007**, *23*, 675. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²¹ Curt, G. A.; Carney, D. N.; Cowan, K. H.; Jolivet, J.; Bailey, B. D.; Drake, J. C.; Chien Song, K. S.; Minna, J. D.; Chabner, B. A. Unstable methotrexate resistance in human small-cell carcinoma associated with double minute chromosomes. *The New England Journal of Medicine* **1983**, *308*, 199. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²² Carman, M. D.; Schornagel, J. H.; Rivest, R. S.; Srimatkandada, S.; Portlock, C. S.; Duffy, T.; Bertino, J. R. Resistance to methotrexate due to gene amplification in a patient with acute leukemia. *Journal of Clinical Oncology* **1984**, *2*, 16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²³ Horns, R. C.; Dower, W. J.; Schimke, R. T. Gene amplification in a leukemic patient treated with methotrexate. *Journal of Clinical Oncology* **1984**, *2*, 2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁴ Trent, J. M.; Buick, R. N.; Olson, S.; Horns, R. C.; Schimke, R. T. Cytologic evidence for gene amplification in methotrexate-resistant cells obtained from a patient with ovarian adenocarcinoma. *Journal of Clinical Oncology* **1984**, *2*, 8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁵ Visakorpi, T.; Hyytinen, E.; Koivisto, P.; Tanner, M.; Keinänen, R.; Palmberg, C.; Palotie, A.; Tammela, T.; Isola, J.; Kallioniemi, O. P. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nature Genetics* **1995**, *9*, 401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁶ Taplin, M. E.; Buble, G. J.; Ko, Y. J.; Small, E. J.; Upton, M.; Rajeshkumar, B.; Balk, S. P. Selection for androgen receptor mutations in prostate cancers treated with androgen antagonist. *Cancer Research* **1999**, *59*, 2511. [[PubMed](#)]
- ¹²⁷ Wang, T. L.; Diaz Jr, L. A.; Romans, K.; Bardelli, A.; Saha, S.; Galizia, G.; Choti, M.; Donehower, R.; Parmigiani, G.; Shih, I. E.; Lacobuzio-Donahue, C.; Kinzler, K. W.; Vogelstein, B.; Lengauer, C.; Valculescu, V. E. Digital karyotyping identifies thymidylate synthase amplification as a mechanism of resistance to 5-fluorouracil in metastatic colorectal cancer patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, *101*, 3089. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁸ Kobayashi, S.; Boggon, T. J.; Dayaram, T.; Jänne, P. A.; Kosher, O.; Meyerson, M.; Johnson, B. E.; Eck, M. J.; Tenen, D. G.; Halmos, B. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *The New England Journal of Medicine* **2005**, *352*, 786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁹ Engelman, J. A.; Zejnullahu, K.; Mitsudomi, T.; Song, Y.; Hyland, C.; Park, J. O.; Lindeman, N.; Gale, C. M.; Zhao, X.; Christensen, J.; Kosaka, T.; Holmes, A. J.; Rogers, A. M.; Cappuzzo, F.; Mok, T.; Lee, C.; Johnson, B. E.; Cantley, L. Jänne, P. A. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science* **2007**, *316*, 1039. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁰ McBride, S. M.; Natural selection's challenge to the cancer stem cell hypothesis. *Medical Hypotheses* **2008**, *71*, 471. [[CrossRef](#)]
- ¹³¹ Campbell, L. L.; Polyak, K. Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? *Cell Cycle* **2007**, *6*, 2332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³² Visvader, J. E.; Lindman, G. J. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nature Reviews. Cancer* **2008**, *8*, 755. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³³ Nawroz, H. Koch, W.; Anker, P.; Stroun, M.; Sidransky, D. Microsatellite alterations in serum DNA of head and neck cancer patients. *Nature medicine* **1996**, *2*, 1035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁴ Chen, X. Q.; Stroun, M.; Magnenat, J. L.; Nicod, L. P.; Kurt, A. M.; Lyautey, J.; Lederrey, C. Anker, P. *Nature Medicine* **1996**, *2*, 1033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ¹³⁵ Pathak, A. K.; Bhutani, M.; Kumar, S.; Mohan, A.; Guleria, R. Circulating cell-free DNA in plasma/serum of lung cancer patients as a potencial screening and prognostic tool. *Clinical Chemistry* **2006**, *52*, 1833. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³⁶ Jung, Y.; Lippard, S. J.; Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 1387. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³⁷ Rixe, O.; Ortuzar, W.; Alvarez, M.; Parker, R.; Reed, E.; Paull, K.; Fojo, T. Oxaliplatin, tetraplatin, cisplatin, and carboplatin: spectrum of activity in drug-resistant cell lines and in the cell lines of the National Cancer Institute's Anticancer Drug Screen panel. *Biochemical Pharmacology* **1996**, *52*, 1855. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³⁸ Burger, H.; Loos, W. J.; Eechoute, K.; Verweij, J.; Mathijssen, R. H. J.; Wiemer, E. A. C.; Drug transporters of platinum-based anticancer agents and their clinical significance. *Drug Resistance Updates* **2011**, *14*, 22. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³⁹ Raymond, E., Faivre, S., Chaney, S., Woynarowski, J., Cvitkovic, E. Cellular and molecular pharmacology of oxaliplatin. *Molecular Cancer Therapeutics* **2002**, *1*, 227. [PubMed]
- ¹⁴⁰ Sasada, T.; Iwata, S.; Sato, N.; Kitaoka, Y.; Hirota, K.; Nakamura, K.; Nishiyama, A.; Taniguchi, Y.; Takabayashi, A.; Yodoi, J.; Redox control of resistance to cis-diamminedichloroplatinum (II) (CDDP): protective effect of human thioredoxin against CDDP-induced cytotoxicity. *The Journal of Clinical Investigation* **1996**, *97*, 2268. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴¹ Gabano, E.; Ravera, M.; Osella, D.; The drug targeting and delivery approach applied to Pt-antitumour complexes. A coordination point of view. *Current Medicinal Chemistry* **2009**, *16*, 4544. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴² Pepper, J. W.; Findlay, C. S.; Kassen, R.; Spencer, S. L.; and Maley, C. C.; Cancer research meets evolutionary biology. *Evolutionary Applications*, **2009**, *2*, 62. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴³ Akaboshi, M.; Kawai, K.; Maki, H.; Akuta, K.; Ujeno, Y.; and Miyahara, T. The number of platinum atoms binding to DNA, RNA and protein molecules of HeLa cells treated with cisplatin at its mean lethal concentration. *Japanese Journal of Cancer Research: Gann* **1992**, *83*, 522. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴⁴ Akaboshi, M.; Kawai, K.; Ujeno, Y.; Takada, S. and Miyahara, T.; Binding characteristics of (-)-(R)-2-aminomethylpyrrolidine(1,1-cyclobutanedicarboxyla-to)-2-platinum(II) to DNA, RNA and protein molecules in HeLa cells and its lethal effect: comparison with cis- and trans-diamminedichloroplatinums(II). *Japanese Journal of Cancer Research: Gann* **1994**, *85*, 106. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴⁵ Woynarowski, J. M.; Faivre, S.; Herzig, M. C.; Arnett, B.; Chapman, W. G.; Trevino, A. V.; Raymond, E.; Chaney, S. G.; Vaisman, A.; Varchenko, M. and Juniewicz, P. E.; Oxaliplatin-induced damage of cellular DNA. *Molecular Pharmacology* **2000**, *58*, 920. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴⁶ Protein Data Bank. Disponível em <<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>>. Acesso em: 15 junho 2017.
- ¹⁴⁷ Verma, J.; Khedkar, V. M.; Coutinho, E. C.; 3D-QSAR in drug design - a review. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2010**, *10*, 95. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴⁸ Brown, R.; Hirst, G. L.; Gallagher, W. M.; McIlwrath, A. J.; Margison, G. P.; Van der Zee, A. G.; Anthoney, D. A. hMLH1 expression and cellular responses of ovarian tumour cells to treatment with cytotoxic anticancer agents. *Oncogene* **1997**, *15*, 45. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴⁹ Nakagawa, T.; Inoue, Y.; Kodama, H.; Yamazaki, H.; Kawai, K.; Suemizu, H.; Masuda, R.; Iwazaki, M.; Yamada, S.; Ueyama, Y.; Inoue, H.; Nakamura, M. Expression of copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) correlates with cisplatin resistance in human non-small cell lung cancer xenografts. *Oncology Reports* **2008**, *20*, 265. [CrossRef] [PubMed]

- ¹⁵⁰ Ahmed, Z.; Deyama, Y.; Yoshimura, Y.; Suzuki, K. Cisplatin sensitivity of oral squamous carcinoma cells is regulated by Na⁺,K⁺-ATPase activity rather than copper-transporting P-type ATPases, ATP7A and ATP7B. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* **2009**, *63*, 643. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵¹ Bagnes, C.; Panchuk, P. N.; Recondo, G. Antineoplastic Chemotherapy Induced QTc Prolongation. *Current Drug Safety* **2010**, *5*, 93. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵² Belian, M. F.; Albuquerque, L. S.; da Silva, W. E.; Selva, T. M. G.; do Nascimento, V. B Instituto Nacional de Propriedade Intelectual, C07F 15/00; A61P 35/00, **2016** (BR 10 2014 024704 1 A2).
- ¹⁵³ Kauffmann, J. M. Mebsout, F.; Patriarche, G. J.; Redox behavior of cis-platin at solid electrodes: carbon paste, platinum. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **1988**, *6*, 441. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵⁴ Burger, K. N; Staffhorst, R. W. H. M.; de Vijlder, H. C.; Velinova, M. J.; Bomans, P. H.; Frederik, P. M.; de Kruijff, B. Nanocapsules: lipid-coated aggregates of cisplatin with high cytotoxicity. *Nature Medicine* **2002**, *8*, 81. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁵ Campone, M.; Rademaker-Lakhai, J. M.; Bennouna, J.; Howell, S. B.; Nowotnik, D. P.; Beijnen, J. H.; Schellens, J. H. Phase I and pharmacokinetic trial of AP5346, a DACH-platinum-polymer conjugate, administered weekly for three out of every 4 weeks to advanced solid tumor patients. *Cancer Chemotherapy Pharmacology* **2007**, *60*, 523. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁶ Sood, P.; Thurmond, K. B.; Jacob, J. E., Waller, L. K.; Silva, G. O.; Stewart, D. R.; Nowotnik, D. P. Synthesis and characterization of AP5346, a novel polymer-linked diaminocyclohexyl platinum chemotherapeutic agent. *Bioconjugate Chemistry* **2006**, *17*, 1270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁷ Rice, J. R.; Gerberich, J. L.; Nowotnik, D. P.; Howell, S. B. Preclinical efficacy and pharmacokinetics of AP5346, a novel diaminocyclohexane-platinum tumor-targeting drug delivery system. *Clinical Cancer Research* **2006**, *12*, 2248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁸ Hamelers, I. H.; de Kroon, A. I. Nanocapsules: a novel lipid formulation platform for platinum-based anti-cancer drugs. *Journal of Liposome Research* **2007**, *17*, 183. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁹ Hemalers, I. H.; van Loenen, E.; Staffhorst, R. W.; de Kruijff, B.; de Kroon, A. I. Carboplatin nanocapsules: a highly cytotoxic, phospholipid-based formulation of carboplatin. *Molecular Cancer Therapeutics* **2006**, *5*, 2007. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶⁰ Weitman, S. D.; Lark, R. H.; Coney, L. R.; Fort, D. W.; Frasca, V.; Jr. Zurawski, V. R. and Kamen, B. A.; Distribution of the folate receptor GP38 in normal and malignant cell lines and tissues. *Cancer Research* **1992**, *52*, 3396. [[PubMed](#)]
- ¹⁶¹ Lotan, R. and Raz, A. Lectins in cancer Cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1988**, *551*, 385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶² Oner, E. T.; Hernandez, L. and Combie, J. Review of levan polysaccharide: from a century of past experiences to future prospects. *Biotechnology Advances* **2016**, *34*, 827. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶³ Ates, O. Systems biology of microbial exopolysaccharides production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2015**, *3*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶⁴ H. Kazak Sarilmiser, E. Toksoy Öner, Investigation of anti-cancer activity of linear and aldehyde-activated levan from *Halomonas smyrnensis* AAD6T, *Biochemical Engineering Journal* **2014**, *92*, 28. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶⁵ Abdel-Fattah, A. M.; Gamal-Eldeen, A. M.; Helmy, W. A.; Esawy, M. A. Antitumor and antioxidant activities of levan and its derivative from the isolate *Bacillus subtilis* NRC1aza. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *89*, 314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶⁶ Esawy, M. A.; Abdel-Fattah, A. M.; M.M. Ali, M. M.; Helmy, W. A.; Salama, B. M.; Taie, H. A.; Hashem, A. M.; Awad, G. E. Levansucrase optimization using solid state

- fermentation and levan biological activities studies. *Carbohydrate Polymers* **2013**, *96*, 332. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶⁷ Liu, J.; Luo, J.; Ye, H. Zeng, X. Preparation, antioxidant and antitumor activities in vitro of different derivatives of levan from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. *Food and Chemical Toxicology* **2012**, *50*, 767. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶⁸ S. Yoo, E. Yoon, E. Cha, H. Lee, Antitumor activity of levan polysaccharides from selected microorganisms, *International Journal of Biological Macromolecules* **2004**, *34*, 37. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶⁹ Queiroz, E. A. I. F.; Fortes, Z. B.; da Cunha, M. A. A.; Sarilmiser, H. K.; Dekker, A. M. B.; Öner, E. T.; Dekker, R. F. H. Khaper, N. Levan promotes antiproliferative and pro-apoptotic effects in MCF-7 breast cancer cells mediated by oxidative stress. *International Journal of Biological Macromolecules* **2017**, *102*, 565. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷⁰ de Souza, I. A.; da Silva, W. E.; Calazans, G. M. T.; de Sá, G. F.; Alves Jr. S.; Malta, O. M. L.; Farrell, N. P.; *Instituto Nacional de Propriedade Intelectual*, **2010** (PI 1002918-4 A2).
- ¹⁷¹ O'Brien, M. E.; Borthwick, A.; Rigg, A.; Leary, A.; Assersohn, L.; Last, K.; Tan, S.; Milan, S.; Tait, D.; Smith, I. E. Mortality within 30 days of chemotherapy: a clinical governance benchmarking issue for oncology patients. *British Journal of Cancer* **2006**, *18*, 1632. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷² Lippert, B.; *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*. Verlag Helvetica Chimica Acta: Switzerland, 1999.