

Comunicación corta/Short communication

Efecto de carboplatino sobre malondialdehído como marcador de lipoperoxidación en glándula submandibular de ratas

Effect of carboplatin on malondialdehyde as a marker of lipoperoxidation in the submandibular gland of rats

Bachmeier Evelin¹, Migueles Goitea María Elena¹, Linares Jorge Alberto¹, Ferreyra Mariani Emma G¹, Wietz Fernando M¹, Dubersarsky Claudio G¹, Brunotto Mabel N², Mazzeo Marcelo A¹.

1. Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.
2. Cátedra de Biología Celular "A". Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

Correspondencia/Corresponding

Dr. Marcelo Mazzeo
Cátedra de Fisiología.
Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba,
Pabellón Argentina s/n Ciudad Universitaria.
CP. 5016. Córdoba, Argentina.
Te: +54-0351-4333032
Correo electrónico / E-mail: marcelo.mazzeo@unc.edu.ar

Received: 21 November 2020; Accepted: 12 May 2021; Published: 4 August 2021

Abstract

The objective of the present work was to evaluate the effect of carboplatin (Cp) on submandibular gland homogenate of Wistar rats through the determination of malondialdehyde levels, as the main end product of lipoperoxidation, in an experimental model. Sixteen three-month-old male Wistar rats were used, housed in individual cages, with controlled temperature and lighting and free diet. A completely randomized design was used and two experimental groups were established: 1) Control (C), administering an intraperitoneal dose of saline solution for one day, n: 8, 2) Animals treated with carboplatin (Cp) applying a dose i.p. of 100 mg / Kg of body weight for one day, n: 8. The animals were fasted for 24 hours and subsequently anesthetized. Then both submandibular glands were removed. Malondialdehyde levels were analyzed in submandibular gland homogenate in both experimental groups. Variations between the groups analyzed were evaluated using the Student's t test for paired samples, setting a p-value <0.05 for statistical significance. Project approved by CICUAL. Faculty of Medical Sciences (UNC). The group of Rats C o showed a concentration of $7.32 \pm 0.48 \mu\text{mol} / \text{mg}$ of gland. The Cp group had a concentration of $12.57 \pm 0.71 \mu\text{mol} / \text{mg}$ of gland, expressing a significant decrease compared to the control group $p < 0.0006$. Cp at the dose tested would cause a decrease in lipoperoxidation in the submandibular gland of rats. Possibly the glandular antioxidant battery would neutralize the oxidative stress of acinar cells. These results suggest a future evaluation of superoxide dismutase (SOD) activity and uric acid (UA) levels.

Key words: Wistar rats, carboplatin, malondialdehyde, submandibular gland.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de carboplatino (Cp) en homogenato de glándula submandibular de ratas Wistar a través de la determinación de los niveles de malondialdehído (MDA), como principal producto final de la lipoperoxidación, en un modelo experimental. Se utilizaron 16 ratas Wistar macho de tres meses de edad, alojadas en jaulas

individuales, con temperatura e iluminación controlada y dieta libre. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado y se establecieron dos grupos experimentales: 1) Control (C), administrándose una dosis intraperitoneal de solución salina durante un día, n: 8, 2) Animales tratados con carboplatino (Cp) aplicándose una dosis i.p. de 100 mg/Kg de peso corporal durante un día, n: 8. Los animales fueron ayunados por 24 horas y posteriormente anestesiados. Seguidamente se extirparon ambas glándulas submandibulares. Se analizaron los niveles de malondialdehído en homogenato de glándula submandibular en ambos grupos experimentales. Las variaciones entre los grupos analizados se evaluaron mediante prueba T de Student para muestras apareadas, fijando un p-valor <0,05 para significación estadística. Proyecto aprobado por CICUAL. Facultad de Ciencias Médicas (UNC). El grupo de Ratas C mostró una concentración de 7.32 ± 0.48 $\mu\text{mol/mg}$ de glándula. El grupo Cp tuvo una concentración de 12.57 ± 0.71 $\mu\text{mol/mg}$ de glándula, expresando una disminución significativa respecto del grupo control $p < 0.0006$. Cp en la dosis ensayada provocaría una disminución de la lipoperoxidación en glándula submandibular de ratas. Posiblemente la batería antioxidante glandular neutralizaría el estrés oxidativo de las células acinares. Estos resultados sugieren evaluar a futuro la actividad de superóxido dismutasa (SOD) y niveles de ácido úrico (AU).

Palabras clave: ratas Wistar, carboplatino, malondialdehído, glándula submandibular.

Introducción

Carboplatino pertenece a un grupo de fármacos denominados compuestos de coordinación de platino, que se utilizan para el tratamiento del cáncer. Es un análogo de cisplatino y actúa como agente alquilante.^{1,2} Se caracteriza en su mecanismo de acción porque atraviesa fácilmente la membrana celular por difusión pasiva. En el citoplasma, donde la concentración de iones cloruro desciende, la molécula sufre hidrólisis. Cede sus iones cloro y se intercambian por grupos hidroxilos. Estos grupos reaccionan con diferentes moléculas del espacio intracelular, entre las que se cuentan proteínas y el propio ADN. Se une de forma covalente al ADN (con la guanina y adenina) para producir enlaces cruzados intracatenarios principalmente, modificando la estructura del ADN e inhibiendo la síntesis y la función del mismo.^{3,4}

Está indicado para el tratamiento del carcinoma de ovario, testicular, de cabeza y cuello y de pulmón en combinación con otros agentes quimioterapéuticos.⁵⁻⁸

Hasta la actualidad, las reacciones tóxicas más comúnmente descritas fueron las respiratorias, genitourinarias, cardiovasculares, gastrointestinales, supresión de la función de la médula ósea, toxicidad hematológica, neurotoxicidad, nefrotoxicidad (menos frecuente) ototoxicidad y otras anomalías sensoriales como defectos visuales. Otros efectos adversos descriptos fueron dolor, astenia y alopecia.^{9,10}

En la cavidad bucal fueron reportadas lesiones a nivel de las mucosas (mucositis) y alteraciones en la percepción del gusto.¹¹⁻¹³

La literatura actual no ha mostrado posibles efectos de carboplatino sobre la estructura y función de las glándulas salivales. A partir de estos antecedentes nuestro laboratorio analizó el efecto de carboplatino sobre la lipoperoxidación de células acinares de glándula submandibular, midiendo la concentración de malondialdehído en un modelo animal.

Material y Métodos

Fueron utilizadas 16 ratas Wistar macho de tres meses de edad, alimentadas ad libitum con dieta balanceada y agua, mantenidas a temperatura controlada de 24°C y bajo ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Se establecieron dos grupos experimentales (diseño apareado): 1) *Control* (n=8) (C), con administración de solución salina intraperitoneal (ip) una sola dosis durante un día, 2) *Problema* (n=8) (P); tratadas con carboplatino (Cp): (nombre comercial: carboplatino LKM 150 mg. Polvo liofilizado), 100 mg/Kg de peso corporal (ip), una sola dosis durante un día. Posteriormente los animales fueron ayunados por 24 horas y luego anestesiados (Tabla 1). Seguidamente se extirparon ambas glándulas submandibulares y los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical. Se analizaron los niveles de MDA en homogenato de glándula submandibular en ambos grupos con un kit de micro-elisa para MDA (laboratorio Abcam).

El presente estudio fue aprobado por el Comité de ética en cuidado de animales de laboratorio de la Facultad de Ciencias Médicas (CICUAL-UNC con fecha 21/07/2014).

Tabla 1. Diseño Experimental

Día	Control (C)	Carboplatino (Cp)	n
1	Solución salina	100 mg/Kg	8
2	Ayuno	Ayuno	8
3	Sacrificio	Sacrificio	8

Análisis Estadístico

Las variaciones de los niveles promedio de MDA se evaluó mediante prueba T de Student para muestras apareadas, fijando un p-valor <0,05 para significación estadística.

Resultados

En el presente estudio experimental, las ratas C mostraron una concentración de MDA de 7.32 ± 0.48 $\mu\text{mol/mg}$ de glándula, en tanto que el grupo tratado con (Cp) tuvo una concentración de $12.57 \pm 0,71$ $\mu\text{mol/mg}$ de glándula, expresando un aumento significativo respecto del grupo control, $p=0.0006$. (Fig. 1).

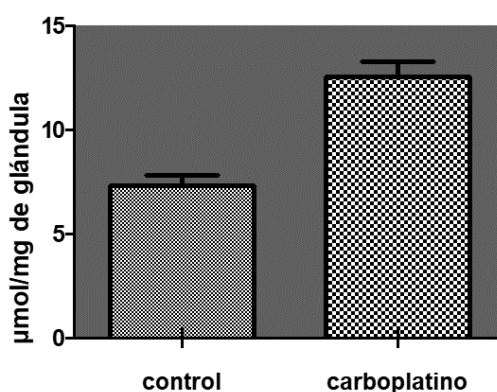


Figura 1: Concentración de MDA en grupos Control (C) y Carboplatino (Cp). Grupo C: 7.32 ± 0.48 $\mu\text{mol/mg}$ de glándula, vs. Grupo P. $12.57 \pm 0,71$ $\mu\text{mol/mg}$ de glándula. $p<0.0006$.

Discusión

Las glándulas salivales parótidas, submandibulares (submaxilares) y sublinguales representan aproximadamente el 90% del total de producción humana de saliva. Se trata de glándulas importantes que participan en el mantenimiento de la homeostasis de la cavidad bucal. Su principal función es la secreción salival y por su intermedio la realización de otras numerosas acciones de vital importancia para el sistema estomatognático^{14, 15} Son escasos los estudios sobre los efectos toxicológicos de las drogas antineoplásicas en las glándulas salivales.

Algunos reportes hacen referencia a la acción de carboplatino sobre la funcionalidad de las glándulas salivales durante el tratamiento por quimioterapia, en los que someramente se ha descrito el síntoma subjetivo de xerostomía asociado a mucositis, como consecuencia del tratamiento con esta droga antineoplásica.^{16,17}

Diversos estudios clínicos y experimentales han demostrado con eficacia comprobada que la lipoperoxidación es un paso importante para el diagnóstico del estrés oxidativo a nivel tisular en glándulas salivales.¹⁸⁻²⁰

Por su parte, las glándulas salivales y la saliva de rata poseen estrecha similitud con la del hombre en los mecanismos de secreción, composición y función por lo que ha probado ser un buen modelo para su estudio.²¹

Ensayos previos de nuestro laboratorio a nivel clínico y experimental han demostrado en otras drogas antineoplásicas no solo alteración de los niveles de lipoperoxidación a través de la medición de malondialdehído, sino también de la batería antioxidante enzimática y no enzimática por medio de la determinación de la actividad de Superóxido Dismutasa y la determinación de los niveles de Ácido Úrico respectivamente.²²⁻²³

En el presente trabajo, Carboplatino en la dosis ensayada de 100mg/Kg de peso corporal provocó un aumento significativo de la lipoperoxidación en glándula submandibular de ratas. Esto podría desencadenar un incorrecto funcionamiento de los mecanismos de secreción salival de la glándula submandibular responsable del 70% de la secreción basal.²⁴

Posiblemente la toxicidad inducida por Carboplatino, haya afectado el balance entre agentes oxidantes y antioxidantes observado por el incremento del MDA a nivel glandular. Estos resultados sugieren evaluar a futuro la actividad de superóxido dismutasa y los niveles de ácido úrico como principales antioxidantes frente al estrés oxidativo provocado por las drogas oncológicas como el carboplatino durante el tratamiento por quimioterapia.

Agradecimientos

Agradecemos a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba (SeCyT) por el financiamiento del presente proyecto de investigación.

*Todos los autores declaran que no existen conflictos potenciales de interés con respecto a la autoría y/o publicación de este artículo.
All authors declare no potential conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.*

Referencias

1. Zhang Y, Zhang R. Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Drug Test Anal.* 2018; 10(1):81-94. doi: 10.1002/dta.2290.
2. Plumridge RJ, Sewell GJ. Dose-banding of cytotoxic drugs: a new concept in cancer chemotherapy. *Am J Health Syst Pharm.* 2001;58(18):1760-4. doi: 10.1093/ajhp/58.18.1760.
3. Veal GJ, Errington J, Hayden J, Hobin D, Murphy D, Dommett RM, Tweddle DA, Jenkinson H, Picton S. Carboplatin therapeutic monitoring in preterm and full-term neonates. *Eur J Cancer.* 2015; 51(14):2022-30. doi: 10.1016/j.ejca.2015.07.011.
4. Veal GJ, Cole M, Errington J, Pearson AD, Gerrard M, Whyman G, Ellershaw C, Boddy AV. Pharmacokinetics of carboplatin and etoposide in infant neuroblastoma patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010 May;65(6):1057-66. doi: 10.1007/s00280-009-1111-9.
5. Yamamoto R, Kaneuchi M, Nishiya M, Todo Y, Takeda M, Okamoto K, Negishi H, Sakuragi N, Fujimoto S, Hirano T. Clinical trial and pharmacokinetic study of combination paclitaxel and carboplatin in patients with epithelial ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2002 Aug; 50(2):137-42. doi: 10.1007/s00280-002-0471-1.
6. Suzuki K, Matsumoto K, Hashimoto K, Kurokawa K, Jinbo S, Suzuki T, Imai K, Yamanaka H, Kawashima K, Takahashi H. Carboplatin-based combination chemotherapy for testicular cancer: relationship among administration dose of carboplatin, renal function and myelosuppression. *Hinyokika Kyo.* 1995;41(10):775-80.
7. Xiang M, Colevas AD, Holsinger FC, Le QX, Beadle BM. Survival After Definitive Chemoradiotherapy With Concurrent Cisplatin or Carboplatin for Head and Neck Cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2019;17(9):1065-1073. doi: 10.6004/jnccn.2019.7297.
8. Grasse S, Lienhard M, Frese S, Kerick M, Steinbach A, Grimm C, Hussong M, et al. Epigenomic profiling of non-small cell lung cancer xenografts uncover LRP12 DNA methylation as predictive biomarker for carboplatin resistance. *Genome Med.* 2018; 10(1):55. doi: 10.1186/s13073-018-0562-1.
9. Bisch SP, Sugimoto A, Prefontaine M, Bertrand M, Gawlik C, Welch S, McGee J. Treatment Tolerance and Side Effects of Intraperitoneal Carboplatin and Dose-Dense Intravenous Paclitaxel in Ovarian Cancer. *J Obstet Gynaecol Can.* 2018; 40(10):1283-1287.e1. doi: 10.1016/j.jogc.2018.01.028.

10. Alberti P. Platinum-drugs induced peripheral neurotoxicity: clinical course and preclinical evidence. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2019;15(6):487-497. doi: 10.1080/17425255.2019.1622679.
11. Epstein JB, Schubert MM. Oropharyngeal mucositis in cancer therapy. Review of pathogenesis, diagnosis, and management. *Oncology (Williston Park).* 2003;17(12):1767-79.
12. Santos RC, Dias RS, Giordani AJ, Segreto RA, Segreto HR. Mucosite em pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço submetidos à radioquimioterapia [Mucositis in head and neck cancer patients undergoing radiochemotherapy]. *Rev Esc Enferm USP.* 2011; 45(6):1338-44. Portuguese. doi: 10.1590/s0080-62342011000600009.
13. Nishijima S, Yanase T, Tsuneki I, Tamura M, Kurabayashi T. Examination of the taste disorder associated with gynecological cancer chemotherapy. *Gynecol Oncol.* 2013;131(3):674-8. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.09.015.
14. Peyrot des Gachons C, Breslin PA. Salivary Amylase: Digestion and Metabolic Syndrome. *Curr Diab Rep.* 2016; 16(10):102. doi: 10.1007/s11892-016-0794-7.
15. de Paula F, Teshima THN, Hsieh R, Souza MM, Nico MMS, Lourenco SV. Overview of Human Salivary Glands: Highlights of Morphology and Developing Processes. *Anat Rec (Hoboken).* 2017; 300(7):1180-1188. doi: 10.1002/ar.23569.
16. Scarpace SL, Brodzik FA, Mehdi S, Belgam R. Treatment of head and neck cancers: issues for clinical pharmacists. *Pharmacotherapy.* 2009; 29(5):578-92. doi: 10.1592/phco.29.5.578.
17. de Castro G Jr, Guindalini RS. Supportive care in head and neck oncology. *Curr Opin Oncol.* 2010; 22(3):221-5. doi: 10.1097/CCO.0b013e32833818ff.
18. Fagundes NC, Fernandes LM, Paraense RS, de Farias-Junior PM, Teixeira FB, Alves-Junior SM, Pinheiro Jde J, Crespo-López ME, Maia CS, Lima RR. Binge Drinking of Ethanol during Adolescence Induces Oxidative Damage and Morphological Changes in Salivary Glands of Female Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016:7323627. doi: 10.1155/2016/7323627.
19. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990; 186:407-21. doi: 10.1016/0076-6879(90)86134-h.
20. Bittencourt LO, Puty B, Charone S, Aragão WAB, Farias-Junior PM, Silva MCF, Crespo-Lopez ME, Leite AL, Buzalaf MAR, Lima RR. Oxidative Biochemistry Disbalance and Changes on Proteomic Profile in Salivary Glands of Rats Induced by Chronic Exposure to Methylmercury. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017:5653291. doi: 10.1155/2017/5653291.
21. Ito K, Morikawa M, Inenaga K. The effect of food consistency and dehydration on reflex parotid and submandibular salivary secretion in conscious rats. *Arch Oral Biol.* 2001;46(4):353-63. doi: 10.1016/s0003-9969(00)00124-2. PMID: 11269869.
22. Bachmeier E, Mazzeo MA, López MM, Linares JA, Jarchum G, Wietz FM, Finkelberg AB. Mucositis and salivary antioxidants in patients undergoing bone marrow transplantation (BMT). *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014; 19(5):e444-50. doi: 10.4317/medoral.19062.
23. Gallia MC, Bachmeier E, Ferrari A, Queralt I, Mazzeo MA, Bongiovanni GA. Pehuén (*Araucaria araucana*) seed residues are a valuable source of natural antioxidants with nutraceutical, chemoprotective and metal corrosion-inhibiting properties. *Bioorg Chem.* 2020; 104:104175. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104175.
24. Dawes C, Pedersen AM, Villa A, Ekström J, Proctor GB, Vissink A, Aframian D, McGowan R, Aliko A, Narayana N, Sia YW, Joshi RK, Jensen SB, Kerr AR, Wolff A. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch Oral Biol.* 2015; 60(6):863-74. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.03.004.

Publisher's Note: This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution(CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

