

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

**7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina reduz o dano oxidativo induzido pela oxaliplatina
em fígado e rim de ratos envelhecidos**

Briana Barros Lemos

Pelotas, 2022

Briana Barros Lemos

**7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina reduz o dano oxidativo induzido pela oxaliplatina
em fígado e rim de ratos envelhecidos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica e Bioprospecção, da Universidade Federal de
Pelotas, como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica e Bioprospecção.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ethel Antunes Wilhelm

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane Luchese

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

L5557 Lemos, Briana Barros

7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina reduz o dano oxidativo induzido pela oxaliplatina em fígado e rim de ratos envelhecidos / Briana Barros Lemos ; Ethel Antunes Wilhelm, orientadora ; Cristiane Luchese, coorientadora. — Pelotas, 2022.

81 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Envelhecimento. 2. Estresse oxidativo. 3. Câncer colorretal. 4. Na⁺/ K⁺ ATPase. 5. Oxaliplatina. I. Wilhelm, Ethel Antunes, orient. II. Luchese, Cristiane, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

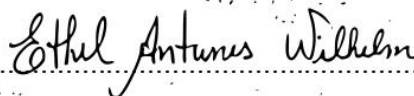
Briana Barros Lemos

7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina reduz o dano oxidativo induzido pela oxaliplatina
em fígado e rim de ratos envelhecidos

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção de grau de Mestre em
Bioquímica e Bioprospecção, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e
Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos,
Universidade Federal de Pelota.

Data da defesa: 04/03/2022

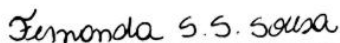
Banca examinadora



Prof^a.Dr^a Ethel Antunes Wilhelm (Orientadora), Doutora em Ciências Biológicas
(Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Brasil.



Prof^a.Dr^a Jucimara Baldissarelli, Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica
Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Brasil.



Dr^a Fernanda Severo Sabedra Sousa, Doutora em Bioquímica e Bioprospecção pela
Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Brasil.

*Dedico esta dissertação a meus pais, meu irmão e ao grupo de Pesquisa do qual eu
faço parte, LaFarBio.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me guiado por todo esse caminho e por ter me concedido forças, principalmente nos momentos em que achei não conseguir.

Ao meus pais, Rodemar e Santa, e a meu irmão, Josemar, por sempre me apoiarem e acreditarem em mim, por fazerem de tudo para que eu continuasse. É tudo por vocês!

A minhas tias Ana, Luci e Vera, e toda a família representada por elas, sem a mão estendida de vocês nada seria possível.

À minha amiga, que está comigo desde a graduação, Ketlyn por todo apoio, por sempre acreditar em mim e por toda ajuda neste trabalho. Também por ter me emprestado um pouquinho da tua família em todo esse tempo.

À minha orientadora, Ethel, por todo auxílio, motivação e exemplo. Obrigada pelas horas de conversas e aconselhamento e por todo suporte nesse período. À Cristiane, muito obrigada por todos os ensinamentos e oportunidades juntamente com a Ethel. Sem a confiança de vocês nada seria possível.

À Angélica e Carol, obrigada por todo esforço, contribuição e horas de trabalho, juntamente com a Ketlyn, para que esse trabalho fosse possível. Sem vocês tudo isso não existiria.

Aos demais colegas do LaFarBio, a genialidade, companheirismo e dedicação de vocês foi essencial para minha formação e para que eu chegasse até aqui.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção pelo espaço e pela oportunidade de fazer parte desta instituição. Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq, FAPERGS e ao Biotério Central da UFPel por todo o auxílio prestado no decorrer do trabalho.

A todos que cruzaram meu caminho ao longo desta caminhada e que, de uma forma ou de outra colaboraram para a realização deste trabalho.

RESUMO

LEMOS, Briana Barros. **7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina reduz o dano oxidativo induzido pela oxaliplatina em fígado e rim de ratos envelhecidos**. 2022. 81f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

O Brasil e o mundo estão envelhecendo. A taxa de pessoas com mais de 60 anos tem crescido cada vez mais nos últimos tempos, e o processo de envelhecimento tem sido indicado como fator de risco para diversas doenças, como o câncer. Neste contexto, cabe mencionar que o câncer colorretal é o terceiro em incidência em idosos. Um dos quimioterápicos preconizados para o tratamento de câncer colorretal é a oxaliplatina (OXA). Entretanto, diversos estudos revelam os efeitos tóxicos da OXA ao organismo, dentre eles se destaca o dano oxidativo a diversos tecidos e sistemas, como os tecidos hepáticos e renais. Diante disto, moléculas com potencial antioxidante podem representar uma alternativa promissora para o tratamento dos danos causos pela OXA em indivíduos idosos. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial farmacológico de 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina (4-PSQ) frente a toxicidade hepática e renal induzida pela OXA em ratos envelhecidos. Para isso, ratos velhos (20 meses) receberam a administração de OXA (10 mg/kg, via intraperitoneal, i.p) ou veículo nos dias 0 e 2 do protocolo experimental. Além disso os animais foram tratados com o 4-PSQ (1 mg/kg, via intragástrica, i.g.) ou veículo, dos dias 2 a 14 do protocolo experimental. Vinte e quatro horas após o último tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia. Amostras de sangue, fígado e rim foram coletadas para determinar marcadores de dano hepático e renal e de estresse oxidativo. Os efeitos do tratamento com o 4-PSQ foram avaliados por meio de alterações na atividade de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), nos níveis de ureia, no plasma dos animais, bem como marcadores de estresse oxidativo no fígado e no rim de ratos velhos (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), tiol não protéico (NPSH); atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GR), delta- aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D)), e a atividade renal da enzima Na^+, K^+ -ATPase. O peso dos animais foi verificado no início e no final do protocolo experimental. Os resultados indicam que o envelhecimento acarreta uma maior perda de massa corporal, o que pode ser agravado pela administração de OXA. A OXA causou danos renais e hepáticos em ratos velhos, evidenciados pelo aumento dos níveis de ureia e da atividade das transaminases (AST e ALT) no plasma. Ainda, os parâmetros de estresse oxidativo foram alterados pelo envelhecimento e exacerbados pela administração da OXA. O tratamento com o 4-PSQ reduziu os níveis plasmáticos de ureia e a atividade de AST e ALT, reduzindo o dano hepático e renal induzido por OXA em animais idosos. Além disso, o tratamento com o 4-PSQ reduziu a oxidação de lipídios e restaurou a homeostase das enzimas antioxidantes em ratos idosos perturbadas pela administração de OXA. Em conclusão, os resultados indicam que o 4-PSQ pode ser uma boa estratégia terapêutica para atenuar o dano tecidual induzido pela OXA em idosos.

Palavras-chaves: Envelhecimento; câncer colorretal; quimioterápico; oxaliplatina; Na^+, K^+ -ATPase; estresse oxidativo.

ABSTRACT

LEMOS, Briana Barros. **7-Chloro-4-(phenylselanyl)quinoline reduces oxidative damage induced by oxaliplatin in liver and kidney of aged rats**. 2022. 81f. Dissertation (Masters in Biochemistry and Bioprospecting) – Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting, Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, 2022.

Brazil and the world are aging. The rate of people over 60 years of age has grown more and more in recent times, and the aging process has been indicated as a risk factor for several diseases, such as cancer. In this context, it is worth mentioning that colorectal cancer is the third in incidence in the elderly. One of the chemotherapy drugs recommended for the treatment of colorectal cancer is oxaliplatin (OXA). However, several studies reveal the toxic effects of OXA to the body, among them the oxidative damage to various tissues and systems, such as liver and kidney. In view of this, molecules with antioxidant potential may represent a promising alternative for the treatment of damage caused by OXA in aged individuals. Thus, this study aimed to evaluate the pharmacological potential of 7-chloro-4-(phenylselanyl)quinoline (4-PSQ) against hepatic and renal toxicity induced by OXA in aged rats. For this, old rats (20 months) received the administration of OXA (10 mg/kg, intraperitoneally, i.p) or vehicle on days 0 and 2 of the experimental protocol. In addition, the animals were treated with 4-PSQ (1 mg/kg, intragastric, i.g.) or vehicle, from days 2 to 14 of the experimental protocol. Twenty-four hours after the last treatment, the animals were euthanized. Blood, liver and kidney samples were collected to determine markers of liver and kidney damage and oxidative stress. Effects of 4-PSQ treatment were evaluated through changes in alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities, urea levels, in the plasma of the animals, as well as oxidative stress markers in the liver and kidney of aged rats (thiobarbituric acid reactive species (TBARS), non-protein thiol (NPSH); enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), delta-aminolevulinate dehydratase (δ -ALA-D)), and renal activity of the enzyme Na^+, K^+ -ATPase. The weight of the animals was verified at the beginning and at the end of the experimental protocol. Results indicate that aging causes a greater loss of body mass, which can be aggravated by the administration of OXA. OXA caused renal and hepatic damage in aged rats, evidenced by increased levels of urea and transaminase activities (AST and ALT) in plasma. Furthermore, oxidative stress parameters were altered by aging and exacerbated by OXA administration. Treatment with 4-PSQ reduced plasma urea levels and AST and ALT activities, reducing OXA-induced liver and kidney damage in aged animals. Furthermore, 4-PSQ treatment reduced lipid oxidation and restored antioxidant enzymes homeostasis in aged rats disturbed by OXA administration. In conclusion, the results indicate that 4-PSQ may be a good therapeutic strategy to attenuate OXA-induced tissue damage in the elderly.

Keywords: Aging; colorectal cancer; chemotherapy; oxaliplatin; Na^+, K^+ -ATPase; oxidative stress

Lista de Figuras

Revisão Bibliográfica

Figura 1	Representação gráfica da evolução das faixas etárias na população brasileira em 2020 e uma projeção para 2050.	15
Figura 2	Marcas do envelhecimento	17
Figura 3	Estrutura dos quimioterápicos a base de platina	18
Figura 4	Interação da Oxaliplatina (OXA) com as fitas do DNA	19
Figura 5	Estrutura do composto 4-PSQ	23
Figura 6	Resumo gráfico do estudo	66

Manuscripto

Figure 1	Chemical structure of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ).....	34
Figure 2	Scheme of the experimental protocol. On day zero and two, rats received either oxaliplatin (OXA) or vehicle (glucose solution), both by intraperitoneal (i.p.) route. On the second day, thirty minutes after OXA administration, the animals received 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ) or canola oil, per oral (p.o.) route, until day 14 of the experimental protocol. On day 15, 24 hours after the last treatment, animals were sacrificed, and blood, liver and kidneys samples were separated for ex vivo assays.....	35
Figure 3	Effects of 4-PSQ on the body weight of aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment.....	40
Figure 4	Effects of 4-PSQ on lipid peroxidation levels in liver (a) and kidney (b) aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment.....	42
Figure 5	Effects of 4-PSQ on antioxidant enzymes activities of aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment: superoxide dismutase (SOD) in liver (a) and kidney (b); glutathione peroxidase (GPx) in liver (c) and kidney (d); glutathione reductase (GR) in liver (e) and kidney (f).....	43
Figure 6	Effects of 4-PSQ on non-protein thiol (NPSH) levels in liver (a) and kidney (b) aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment.....	45
Figure 7	Effects of 4-PSQ on the activity of sulfhydryl enzymes sensitive to oxidative stress in aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment: δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D) in liver (a) and kidney (b); Na^+ , K^+ -ATPase in kidney (c).....	47
Figure 8	Correlation between plasmatic transaminases activities and lipid peroxidation in the liver of aged rats after OXA treatment.....	48
Figure 9	Correlation between plasmatic urea levels (mg/dL) and renal Na^+ , K^+ -ATPase activity (nmol Pi/mg ptn/min) after OXA treatment in aged rats.....	49

Lista de Tabelas

Manuscrito

Table 1	Hepatic and renal markers in the plasma of aged rats after administration of oxaliplatin (OXA, 10 mg/kg) and/or 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ, 1 mg/kg)	44
----------------	---	----

Lista de abreviaturas

4-PSQ – 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina

ABTS - 2,2–azinobis-3-etil–benzotiazolina–6–ácido sulfônico

ALT - Alanina aminotransferase

AST - Aspartato aminotransferase

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro

CREB – Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc

DA - Doença de Alzheimer

DNA – ácido desoxirribonucleico

DNCB - 2,4-dinitroclorobenzeno

DPPH - 2,2'-difenil-1-picrilidrazil

EROs – Espécies reativas de oxigênio

FDA - Food and Drug Administration

GPx – Glutathione peroxidase

GR - Glutathione redutase

GSH – Glutathione reduzida

GST- Glutathione S-transferase

HO1 – Heme oxygenase 1

HPA - Hipotálamo-hipófise-adrenal

MPO – Mieloperoxidase

NF- κ B - Fator nuclear kappa B

NPSH – Tiol não protéico

Nrf2 - Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2

OXA – Oxaliplatina

Pt - Platina

PTZ – Pentilenotetrazol

SOD – Superóxido dismutase

SOD3 – Superóxido dismutase 3

TBARS - Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

δ -ALA-D - Ácido δ -Aminolevulinato desidratase

Sumário

1. Introdução.....	12
2. Objetivos	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. Revisão bibliográfica	15
3.1 Envelhecimento	15
3.2 Oxaliplatina	19
3.2.1 Toxicidade hepática e renal da oxaliplatina	21
3.3 Propriedades farmacológica do 4-PSQ	23
4. Capítulo I	29
4.1 Manuscrito	30
5. Discussão	63
6. Conclusão.....	67
7. Referências.....	68

1. Introdução

O processo de envelhecimento é marcado por eventos naturais e progressivos, estando relacionado a danos às macromoléculas e tecidos. Ainda, o envelhecimento tem sido associado como fator de risco para diversas doenças crônicas, dentre elas o câncer (CORDANI et al., 2019; WHO, 2021). Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) estima-se que em 2030, pelo menos 16% da população tenha 60 anos ou mais, e até 2025, o Brasil será o sexto país do mundo em número de idosos (WHO, 2005). Com o constante aumento da população idosa espera-se que em 2050 o número de pessoas na faixa etária dos 60 anos chegue até 2 bilhões (WHO, 2021).

Neste contexto, cabe enfatizar que atualmente o carcinoma colorretal é o terceiro em incidência e representa 9% das mortes por câncer no mundo, e que a Oxaliplatina (OXA) é um dos principais quimioterápicos utilizado nos regimes de terapia para essa neoplasia maligna (SUNG et al., 2021). Diversos estudos vêm demonstrando os efeitos tóxicos da OXA ao organismo, dentre eles, se destacam os danos oxidativos à diversos tecidos e sistemas, como os tecidos hepático e renal (LEMOS et al., 2021; DA MOTTA et al., 2021). Um dos mecanismos comuns entre os danos causados pela OXA e o processo de envelhecimento é o estresse oxidativo. O acúmulo progressivo de dano oxidativo às macromoléculas e mitocôndrias desencadeia alterações fisiopatológicas, perda da funcionalidade dos sistemas do organismo e envelhecimento acelerado (LUO et al., 2020).

Nosso grupo de pesquisa vem estudando as propriedades do composto 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina (4-PSQ), que tem se mostrado uma droga multialvo, com diversas ações biológicas, dentre elas, uma ação antioxidante efetiva (VOGT et al., 2018; BARTH et al., 2019; DA MOTTA et al., 2021). O 4-PSQ tem se mostrado promissor no tratamento de toxicidades associadas ao uso de OXA, como destaca Reis e colaboradores (2020a) por meio da redução da neuropatia periférica resultante da administração do quimioterápico e pelo tratamento de comorbidades associadas (REIS et al., 2020b). Ainda, o 4-PSQ reduz a hepatotoxicidade e a nefrotoxicidade em camundongos jovens expostos à OXA (LEMOS et al., 2021; DA MOTTA et al., 2021). Nestes modelos de toxicidade da OXA, o 4-PSQ foi efetivo por meio da modulação do estresse oxidativo, da

via colinérgica e da atividade da enzima Na^+ , K^+ -ATPase. Além disso, recentemente foi evidenciado a vantagem terapêutica do 4-PSQ no tratamento da neuropatia periférica aguda, revertendo a hipersensibilidade ao frio e mecânica induzida por OXA em camundongos envelhecidos, mais uma vez tendo seu mecanismo de ação associado a modulação do estresse oxidativo e de ATPases, como Na^+ , K^+ -ATPase e Mg^{2+} -ATPase (REIS et al., 2022). De maneira importante, o 4-PSQ foi desafiado como uma droga antienvelhecimento, destacando sua ação antioxidante frente aos danos oxidativos causados pelo envelhecimento (LUCHESE et al., 2020). Este composto também mostrou ação intensificadora de memória em animais velhos, com modulação da neuroplasticidade, atividade da acetilcolinesterase e níveis de colesterol (BARTH et al., 2019). Assim, considerando os resultados promissores do 4-PSQ, foi avaliado o efeito deste derivado quinolínico frente à toxicidade hepática e renal induzida pela OXA em ratos envelhecidos.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos do tratamento com o 4-PSQ frente ao estresse oxidativo induzido pelo envelhecimento e exposição à OXA em ratos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência da exposição à OXA no dano tecidual causado pelo processo de envelhecimento;
- Determinar a contribuição do estresse oxidativo no dano hepático e renal induzido pelo envelhecimento e exposição à OXA;
- Avaliar a potencial ação farmacológica do 4-PSQ frente aos danos renal e hepático induzidos pela OXA em ratos velhos.

3. Revisão bibliográfica

3.1 Envelhecimento

Hoje, o envelhecimento é tido como um dos problemas demográfico, médico e social mais importante. De fato, a população mundial tem envelhecido mais rapidamente, estimando-se que no ano de 2050 o número de pessoas com 60 anos ou mais será maior do que pessoas de 10 a 24 anos (FANE e WEERARATNA, 2020). No Brasil, o número de idosos no país aumentou em 600% de 1960 a 2006, e estima-se ainda que no ano de 2030, pelo menos 16% da população tenha 60 anos ou mais, e até 2025, o Brasil será o sexto país do mundo em número de idosos (VERAS, 2007; WHO, 2005). Na figura 1 pode-se observar, através da pirâmide etária, estas alterações ocorridas na população brasileira ao longo dos anos. Ainda, o estado do Rio Grande do Sul está entre os 5 estados brasileiros com maior expectativa de vida (79 anos) e estima-se que em 2060 aumente para 84 anos (IBGE, 2020). No Rio Grande do Sul, em 2020 a proporção de pessoas com 65 anos ou mais era de 13,10 e hoje estima-se que em 2050 essa proporção seja de 25,70 (IBGE, 2020).

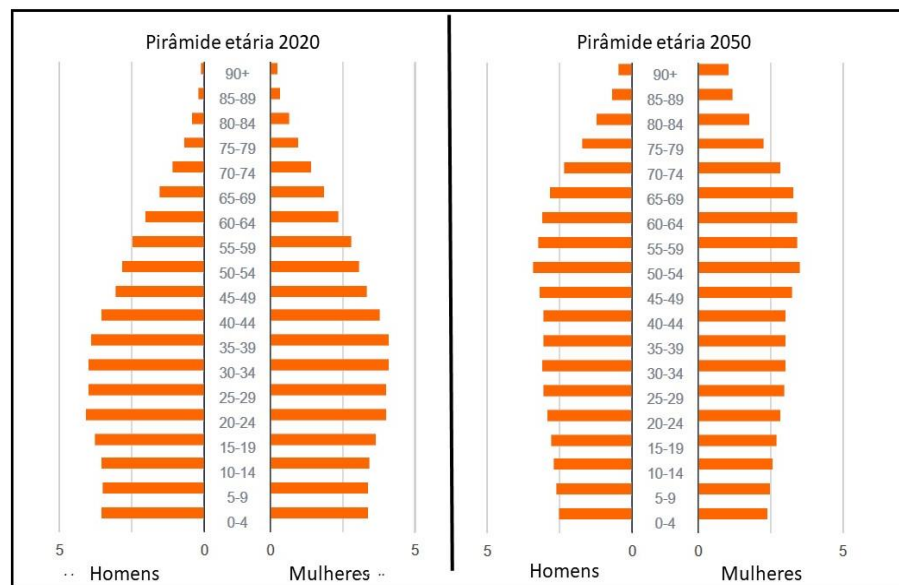


Figura 1. Representação gráfica da evolução das faixas etárias na população brasileira em 2020 e uma projeção para 2050. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2020.

O envelhecimento é resultado de processos naturais, progressivos, dinâmicos e cronológicos. O processo de envelhecimento é caracterizado pelo acúmulo gradual de danos às células, declínio funcional progressivo e aumento da suscetibilidade e vulnerabilidade a doenças (LÓPEZ-ÓTIN et al., 2013). Além disso, o envelhecimento está intimamente ligado ao início e progressão de várias doenças relacionadas à idade, e diversos estudos vêm buscando compreender, cada vez mais e de uma forma integrada, o que ocorre durante este processo (SWERDLOW, 2011; BUFORD, 2016; KITADA et al., 2016; HOU et al., 2019). Ao longo do tempo diversas teorias foram estudadas e postuladas, mas até hoje nenhuma delas consegue dar respostas completas para os questionamentos relacionados ao envelhecimento. O direcionamento de pesquisas acerca desse processo é baseado em investigar as marcas do envelhecimento como perda de proteostase, instabilidade genômica, desgaste dos telômeros e alterações epigenéticas, além de detecção desregulada de nutrientes, disfunção mitocondrial, senescência celular, exaustão de células-tronco e comunicação intercelular alterada (Figura 2) (LÓPEZ-ÓTIN et al., 2013).

A instabilidade genômica é marcada por lesões ao DNA, podendo ser causada por fatores intrínsecos ou extrínsecos como as interações com o meio ambiente, e parte desses danos podem ser causados pelo estresse oxidativo (SLANE et al., 2006; FAKOURI et al., 2019). Ainda, o desgaste dos telômeros é uma das marcas do envelhecimento mais estudadas e compreendidas e está relacionado à disfunção mitocondrial, pela diminuição na produção de energia, que leva à fragilidade e ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (CHAKRAVARTI et al., 2021). Além disso, as mudanças epigenéticas, que envolvem alterações nos padrões de metilação do DNA, modificação pós-tradução de histonas e remodelamento da cromatina, afetam todas as células e tecidos ao longo da vida (TALENS et al., 2012). O acúmulo dessas alterações primárias desencadeia as demais marcas antagônicas e integrativas (LÓPEZ-ÓTIN et al., 2013).

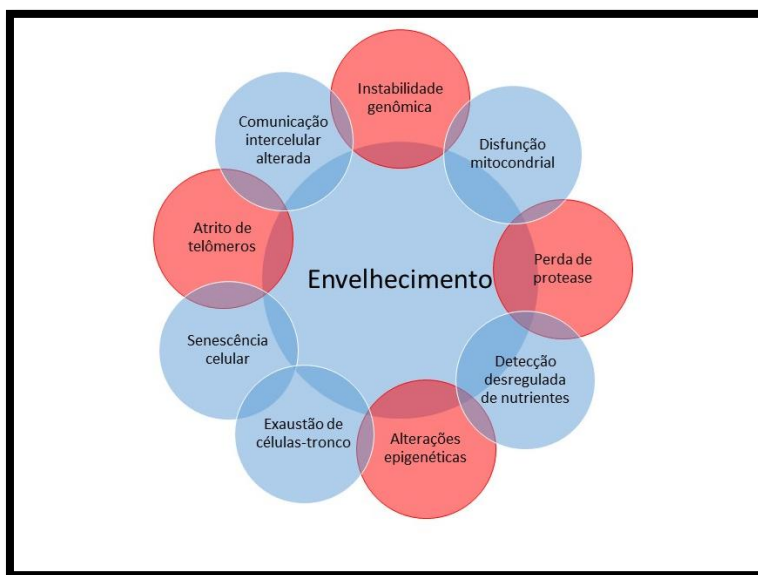


Figura 2. Marcas do envelhecimento. (Adaptado de LÓPEZ-ÓTIN et al. 2013)

De um modo geral, as teorias do envelhecimento discutem e defendem dois aspectos, o do envelhecimento programado e o do envelhecimento ocasionado por danos presentes e/ou provocados (JIN, 2010). Com base na teoria de danos ou erro, a hipótese dos radicais livres defende que essas espécies reativas causam danos aos componentes macromoleculares da célula, causando acúmulo de danos, fazendo com que o organismo pare de funcionar (JIN, 2010). As macromoléculas, como ácidos nucleicos, lipídios, açúcares e proteínas, são suscetíveis ao ataque de radicais livres (DI MEO e VENDITTI, 2020). Além disso, as mitocôndrias estão frequentemente implicadas na determinação da taxa de envelhecimento, uma vez que os níveis elevados de radicais livres produzidos por essa organela ajudam a explicar sua disfunção relacionada à idade (DAI et al., 2014).

De fato, no envelhecimento há uma maior produção de oxidantes de fontes diversas, em contrapartida as enzimas antioxidantes, as principais linhas de defesa, são diminuídas; além disso, a ativação do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) é prejudicada no envelhecimento com perda da resposta eletrofílica. O Nrf2 é responsável por induzir a expressão de proteínas antioxidantes (ZHANG et al., 2015). As defesas antioxidantes são elementos importantes na proteção dos sistemas biológicos contra os danos causados pela ação das espécies reativas. Temos como a primeira linha de defesa antioxidante enzimática as enzimas SOD, CAT e GPx (IGHODARO e

AKINLOYE, 2018). A SOD catalisa a dismutação de ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a CAT converte H_2O_2 em oxigênio molecular e água, e a GPx catalisa a degradação de H_2O_2 e hidroperóxidos à custas da glutathiona reduzida (GSH). Assim, essas enzimas apresentam importante papel na manutenção da homeostase redox no organismo pela remoção de espécies reativas de oxigênio. Entretanto, diversos estudos trazem relações controversas entre a atividade de enzimas antioxidantes e o avanço da idade. Rizvi e Maurya (2007) observaram uma correlação positiva entre a atividade enzimática de SOD e CAT e a progressão da idade indicando uma resposta compensatória do indivíduo a um aumento do estresse oxidativo. Por outro lado, Inal e colaboradores (2001) observaram uma correlação negativa entre a atividade da enzima SOD e o envelhecimento, e uma correlação positiva entre a atividade enzimática de GPx e a idade dos indivíduos.

Outra enzima importante é a glutathiona redutase (GR), ela faz parte do ciclo redox da glutathiona e é responsável por restaurar os níveis de GSH por reduzir a glutathiona oxidada, às custas de NADPH. Segundo Martinez de Toda e colaboradores (2019), em indivíduos de meia idade e mais velhos, a enzima GR encontra-se inibida, assim como outras enzimas antioxidantes, com consequente aumento na taxa oxidante. Esse perfil muda em indivíduos longevos (< 99 anos). De fato, esses estudos corroboram com a hipótese de que o processo de envelhecimento causa uma perturbação no equilíbrio redox, favorecendo o aumento de danos ao organismo e o aumento na incidência de doenças relacionadas a idade (Martínez de Toda et al., 2019)

Ainda, o estresse oxidativo presente no envelhecimento está associado a danos causados por esse processo. Um exemplo é o envelhecimento renal, que pode ser mediado pelo estresse oxidativo, levando a exacerbação de danos aos lipídeos, o que está intimamente ligado à disfunção renal, sendo ainda, o rim um dos órgãos mais sensíveis ao envelhecimento (HARUN, 2021). O envelhecimento é um fator de risco importante para o desenvolvimento e prognóstico de várias doenças e condições hepáticas crônicas, uma vez que a capacidade reduzida de fígados idosos para se regenerar leva a um aumento do risco de mortalidade por doenças hepáticas crônicas (STAHL et al., 2018). No estudo de Luchese e colaboradores (2020) os danos oxidativos

no fígado e no rim de animais velhos foi evidenciado pelo aumento na peroxidação lipídica nesses tecidos, além da alteração na atividade de enzimas antioxidantes e nos marcadores de dano renal e hepático.

3.2 Oxaliplatina

A OXA, oxalato-(1,2-diaminociclohexano)platina II, é um fármaco quimioterápico a base de platina de terceira geração que foi desenvolvido na década de 70, no Japão, demonstrando eficácia contra tumores resistentes aos quimioterápicos a base de platina de primeira (cisplatina) e segunda (carboplatina) geração (Figura 3) (KIDANI et al. 1978). A OXA foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2002 e hoje é possível observar o uso deste medicamento no mundo todo, sendo descrito como o quimioterápico de primeira linha para o tratamento do câncer colorretal (IBRAHIM et al., 2004; BOKEMEYER et al., 2007).

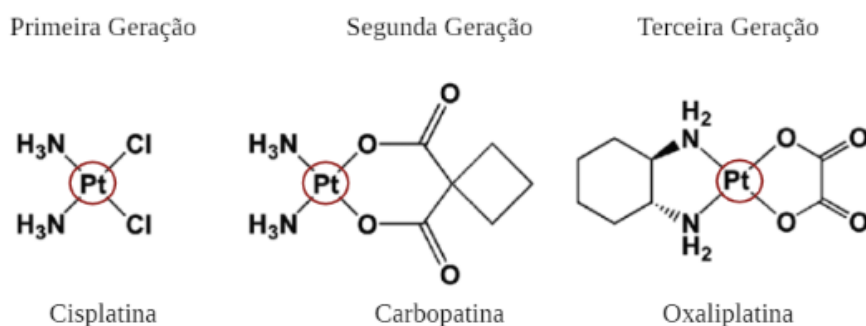


Figura 3. Estrutura química dos quimioterápicos a base de platina. (Adaptado de DOSPIVOVA et al., 2012)

A OXA, que apresenta em sua estrutura um átomo de platina (Pt) complexado com oxalato e diaminociclohexano (DACH), tem ação anticâncer por inibir a replicação e transcrição do DNA. Além disso, a OXA desencadeia a morte celular por apresentar ação citotóxica contra as células cancerígenas e formar ligações com o DNA, na forma de aductos, de maneira covalente a partir da liberação do oxalato como grupo de saída (Figura 4) (PEREIRA, 2020). Esses aductos são formados pela OXA com o DNA de uma forma semelhante ao mecanismo da cisplatina, com lesões causadas predominantemente por pontes intracadeia entre bases GG, sendo necessário um número menor de aductos formados pela OXA em comparação aos aductos de cisplatina.

Em contrapartida, a OXA apresenta uma maior citotoxicidade por ter em sua estrutura o anel DACH, formando assim aductos mais volumosos e hidrofóbicos (BORDIN, 2013; RAY, GUPTA e MEHROTRA 2019).

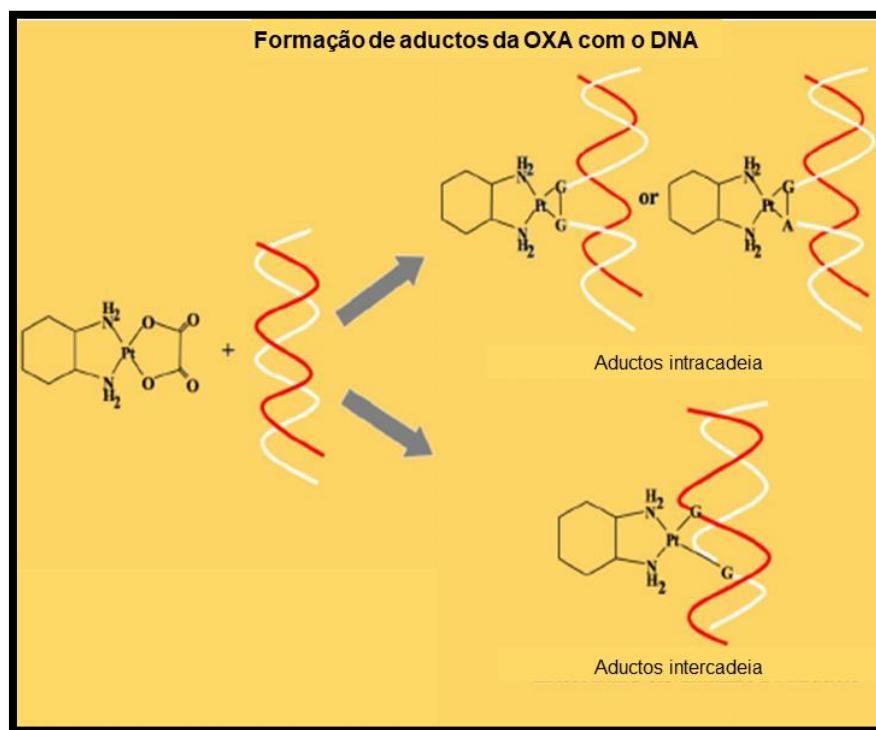


Figura 4. Interação da Oxaliplatina (OXA) com as fitas do DNA. (Adaptado de BOULIKAS, 2007)

Além dos danos ao DNA ocasionados pela formação de aductos com a OXA, estudos vêm demonstrando que a geração de EROs está envolvida no mecanismo de morte celular cancerígena causada pela OXA relacionado ao estresse do retículo endoplasmático e autofagia (SHI et al., 2012). De fato, compostos à base de platina foram relatados como citotóxicos pela via do estresse oxidativo e geração de EROs em células malignas, o que constitui um mecanismo que sustenta os efeitos citotóxicos sinérgicos observados com tratamentos anticâncer combinatórios (CHEN et al., 2019). A OXA é principalmente utilizada em combinação no regime quimioterápico FOLFOX (ácido folínico, fluorouracil e OXA), uma vez que como agente único tem atividade modesta, com uma taxa de resposta objetiva de aproximadamente 20% em pacientes sem tratamento prévio e de 1,3% em um ensaio de Fase III, como agente quimioterápico de

segunda linha. Quando combinada com outros agentes quimioterápicos, o tratamento resulta em uma taxa de resposta objetiva de até 50% como escolha primária e de 15% como quimioterápico de segunda linha (STEIN e ARNOLD, 2012).

Embora o tratamento com a OXA seja eficaz e melhore significativamente a sobrevida de pacientes, seu uso está associado a efeitos/eventos adversos. Um dos principais e mais explorados é a neurotoxicidade, embora casos de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade atribuídos ao uso de OXA sejam recorrentes. De fato, metais pesados, incluindo a platina, são conhecidos por causar danos oxidativos às biomoléculas ao iniciar a reação em cadeia mediada por radicais livres, resultando em peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e oxidação de ácidos nucleicos como o DNA (DEAVALL et al., 2012).

De modo geral, os mecanismos envolvidos na toxicidade da OXA permanecem incertos. Recentemente nosso grupo de pesquisa observou, pela primeira vez, o acúmulo de platina na medula espinhal de camundongos que foram expostos a OXA (10 mg/kg, i.p, nos dias 0 e 2) (REIS et al., 2020a). Defende-se que a OXA, uma vez inserida em células endoteliais da barreira hematoencefálica, causa um aumento na produção de espécies reativas, ocasionando um aumento na permeabilidade da barreira pelo seu afrouxamento (BRANCA et al., 2018). De fato, Reis e colaboradores (2020a) demonstraram um aumento nos níveis de espécies reativas no sistema nervoso central, induzido por OXA. Assim, a hipótese de danos diretos causados pela OXA, e o envolvimento no aumento na produção de espécies reativas, ganha cada vez mais força.

3.2.1 Toxicidade hepática e renal da oxaliplatina

A OXA foi sintetizada em 1976, e desde lá diversos estudos pré-clínicos e clínicos minimizaram seus efeitos tóxicos direcionados a tecidos como o fígado e o rim. Há exemplos de publicações, no início dos anos de 2000, em que estudos relatam a OXA como um quimioterápico sem, ou com poucos, efeitos nefrotóxicos – resultados muitas vezes obtidos por comparação com seu análogo cisplatina, que tem uma elevada nefrotoxicidade – e análises de hepatotoxicidade praticamente inexistentes. Os primeiros relatos dos principais efeitos não desejados da OXA destacam os efeitos hematológicos

e a neurotoxicidade (COBO et al., 2007; GEBREMEDHN et al., 2018). De fato, esses ainda são muito explorados em termos mecanicistas e em busca de soluções terapêuticas. Entretanto, diversos relatos revelam um aumento de incidência de alterações hepáticas e renais. Com isso, a toxicidade e muitas vezes até mesmo a quimioresistência, levam à interrupção do tratamento quimioterápico, prejudicando o tratamento e a sobrevida dos pacientes. Realmente, muitos dos quimioterápicos não apresentam alta especificidade para células cancerígenas, não conseguindo distinguir entre células tumorais e células normais não cancerosas, levando a quadros de toxicidade e limitando seu uso clínico. Lesões hepáticas induzida por OXA apresentam uma taxa de incidência de 19–78%, e relatos de necrose tubular aguda têm apresentado um aumento conforme o aumento do uso de OXA (RUBBIA-BRANDT et al., 2004; VAUTHEY et al., 2006). A lesão renal aguda é um efeito adverso raro, mas grave, da administração de OXA.

Agentes citotóxicos, muitas vezes direcionados à genes/proteínas, vêm sendo descritos por apresentarem nefrotoxicidade como evento adverso, o que limita a eficácia de tratamentos e aumenta a morbimortalidade de pacientes (SANTOS et al., 2020). A cisplatina, um dos primeiros quimioterápicos a base de platina, é conhecido pela sua alta taxa de incidência de nefrotoxicidade. De fato, os compostos de platina apresentam um perfil de toxicidade renal, sendo a OXA descrita como a com menor toxicidade renal, quando comparada com a cisplatina e carboplatina (YAMADA et al., 2019). Embora essa comparação tenha dado à OXA a identidade de um composto derivado de platina com boa segurança em relação a toxicidade renal, nos últimos anos a notificação de casos de lesões renais agudas tem preocupado, o que tem levado ao aumento no interesse pela compreensão desta toxicidade para a busca de sua minimização (YAGHOBI JOYBARI et al., 2014).

Os mecanismos nefrotóxicos de compostos de platina podem incluir estresse oxidativo, adutos de DNA, inflamação, disfunção mitocondrial e citotoxicidade direta nas células epiteliais tubulares. Um estudo utilizando células de rim embrionário humano investigou ações comparativas de cisplatina e OXA por meio de biomarcadores de estresse oxidativo (WALY, AL MOUNDHRI e ALI, 2011). Os autores observaram que

essas drogas de platina levaram a uma depleção significativa nos níveis de GSH e na capacidade antioxidante total, além de inibirem significativamente enzimas antioxidantes (WALY, AL MOUNDHRI e ALI, 2011). De fato, estudos pré-clínicos vêm demonstrando alterações em parâmetros de estresse oxidativo nos modelos de nefrotoxicidade, assim como em marcadores de dano renal. A administração de OXA leva ao aumento nos níveis de peroxidação lipídica, redução do conteúdo de GSH, assim como ao desequilíbrio na homeostase das enzimas antioxidantes, e ao aumento nos valores de fragmentação de DNA (ASHRY et al., 2021; DA MOTTA et al., 2021). Os estudos que investigam a nefrotoxicidade da OXA ainda são poucos, limitando o conhecimento de seu mecanismo.

A OXA é identificada como um dos agentes quimioterápicos convencionais mais comuns de apresentarem efeitos hepatotóxicos, assim como o metrotexato e irinotecano (LU et al., 2020). Estudos sugerem que o estresse oxidativo, o dano inflamatório, fibrose hepática, e a agregação e adesão plaquetária podem ser os mecanismos envolvidos em alguns eventos hepatotóxicos. De fato, a literatura traz diversos estudos explorando e demonstrando o estresse oxidativo como um mecanismo de toxicidade hepática. Tabassum e colaboradores (2015) demonstraram o dano dose-dependente causado pela OXA em mitocôndrias hepáticas isoladas, revelando parâmetros de estresse oxidativo como biomarcadores de toxicidade mitocondrial. Ainda, os autores concluem que o estresse oxidativo é um ponto importante na toxicidade mitocondrial da OXA, comprometendo a integridade do tecido hepático por meio da oxidação de lipídios e proteínas (TABASSUM et al., 2015). Em eventos de lesões hepáticas agudas, uma regulação negativa de genes relacionados ao estresse oxidativo, incluindo heme oxigenase 1 (HO1), superóxido dismutase 3 (SOD3) e Nrf2, está presente; além da redução nos níveis de glutathione reduzida (GSH) e o desequilíbrio na homeostase de enzimas antioxidante (DE ANDRADE et al., 2015; ROBINSON et al., 2013).

3.3 Propriedades farmacológicas do 4-PSQ

O 4-PSQ (Figura 5), um derivado quinolínico contendo selênio, vem se destacando por suas propriedades farmacológicas, e seu perfil multialvo. Sua primeira propriedade

farmacológica, descrita por Savegnago e colaboradores (2013), foi a de antioxidante em testes *in vitro*. De lá para cá, diversos estudos foram desenvolvidos investigando as ações do 4-PSQ em modelos pré-clínicos (PINZ et al., 2016, 2018; REIS et al., 2017, 2020a, 2020b, 2022; SILVA et al., 2017; VOGT et al., 2018; VOSS et al., 2018; BARTH et al., 2019; PALTIAN et al., 2020; LUCHESE et al., 2020; RODRIGUES et al., 2021a, 2021b; LEMOS et al., 2021; DA MOTTA et al., 2021; DE OLIVEIRA et al., 2022;).

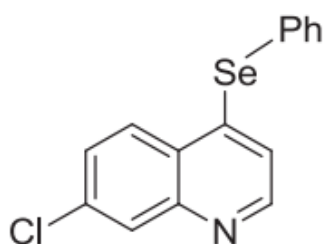


Figura 5. Estrutura química do composto 4-PSQ.

Pinz e colaboradores (2016) investigaram a ação antinociceptiva do 4-PSQ (25 mg/kg, p.o) nos testes da formalina, placa quente e no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os resultados sugeriram que o 4-PSQ tem ação a nível central e periférico, com ação antinociceptiva de início rápido e duradoura; além disso, a ação anti-inflamatória do composto foi observada por meio da redução do edema de pata induzido por formalina e edema de orelha induzido óleo de cróton. Neste mesmo estudo, o potencial antioxidante *in vivo* e a ação anti-inflamatória do composto foi evidenciada. O pré-tratamento com o 4-PSQ foi capaz de reduzir os níveis de espécies reativas induzido por óleo de cróton na orelha de camundongos, e proteger parcialmente contra a diminuição dos níveis de 2,2'-difenil-1-picrilidrazil (DPPH) e de 2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS) (PINZ et al., 2016).

Silva e colaboradores (2017), em uma análise adicional das ações antinociceptiva e anti-inflamatória aguda do 4-PSQ, demonstraram que o composto exerce sua ação antinociceptiva pela modulação dos sistemas serotoninérgico, nitrérgico e glutamatergico. Ainda, o efeito anti-inflamatório agudo do 4-PSQ, em um modelo de pleurisia induzida por carragenina em camundongos, foi evidenciado pela redução na

migração celular, no acúmulo de exsudato pleural e na atividade da mieloperoxidase (MPO) induzida pela exposição à carragenina. O 4-PSQ protegeu contra o aumento dos níveis de espécies reativas e redução dos níveis de tiol não proteico induzidos por carragenina, reforçando sua ação antioxidante (SILVA et al., 2017).

Reforçando a modulação da via glutamatérgica pelo 4-PSQ, Reis e colaboradores (2017) destacaram a ação ansiolítica do 4-PSQ (50 mg/kg, p.o), em um modelo induzido por cainato, um agonista de receptor glutamatérgico. O composto reduziu a captação, mas não a liberação, de glutamato em estrutura cerebral (REIS et al., 2017). Paltian e colaboradores (2020) investigaram a contribuição das vias serotoninérgicas e GABAérgicas no efeito ansiolítico do 4-PSQ. O pré-tratamento com diferentes antagonistas serotoninérgicos (pindolol, WAY100635 e cetanserina) bloqueou o efeito ansiolítico causado pelo 4-PSQ. O composto diminuiu a ansiedade induzida por pentilenotetrazol (PTZ), um antagonista do receptor GABA_A. O 4-PSQ modula parâmetros associados à ansiedade em camundongos, reduzindo os níveis de corticosterona e normalizando a expressão de proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc (CREB, do inglês *cAMP responsive element binding protein*), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês *brain-derived neurotrophic factor*) e fator nuclear kappa B (NF-κB, do inglês *Nuclear factor-κB*) alterada por PTZ (PALTIAN et al., 2020)

A fim de melhor compreender a ação antioxidante do 4-PSQ, Vogt e colaboradores (2018) investigaram a importância do grupamento fenilselanil na atividade antioxidante do composto. Os resultados indicam que o grupo fenilselanil é de extrema importância nessa ação (VOGT et al., 2018). Adicionalmente, com base nas evidências de modulação do sistema glutamatérgico pelo 4-PSQ, Pinz e colaboradores (2018) analisaram o efeito do 4-PSQ em um modelo de doença de Alzheimer (DA) em camundongos. Nesse estudo o 4-PSQ protegeu contra o comprometimento de aprendizagem e memória e ansiedade em um modelo de DA induzida pelo peptídeo β-amilóide. Além disso, a ação anticolinesterásica e no metabolismo do colesterol foram somados a gama de efeitos farmacológicos do composto, destacando o 4-PSQ como um composto multialvo (PINZ et al., 2018).

Barth e colaboradores (2019) também investigaram o efeito do 4-PSQ frente ao comprometimento de memória e aprendizagem. Com sete dias de tratamento, o 4-PSQ (5 mg/kg, p.o) restaurou o comprometimento cognitivo causado pelo envelhecimento, modulando a plasticidade sináptica, o sistema colinérgico e os níveis de colesterol (BARTH et al., 2019). Luchese e colaboradores (2020) também demonstraram que o 4-PSQ age como uma droga antienvelhecimento (LUCHESE et al., 2020).

Com o objetivo de explorar ainda mais o potencial terapêutico e tecnológico do 4-PSQ, Voss e colaboradores (2018) investigaram os principais efeitos do tratamento oral e tópico com o 4-PSQ sobre sintomas, parâmetros inflamatórios e oxidativos em um modelo de dermatite atópica em camundongos. O 4-PSQ atenuou os sintomas semelhantes à dermatite atópica em camundongos ao suprimir o aumento da atividade da enzima MPO e os níveis de espécies reativas induzidos por 2,4-Dinitroclorobenzeno (DNCB). É importante ressaltar que a eficácia do 4-PSQ no tratamento foi semelhante ou melhor que a dexametasona e, que a incorporação de 4-PSQ em um biofilme manteve o seu efeito terapêutico, ampliando o uso deste composto por outra via de administração (VOSS et al., 2018).

Rodrigues e colaboradores (2021) demonstraram que o 4-PSQ pode representar uma alternativa terapêutica para a obesidade hipotalâmica. O 4-PSQ reverteu o aumento de gordura epididimal, de glicose no sangue e dos níveis de triglicerídeos causados pela exposição neonatal de ratos ao glutamato monossódico. Ainda o tratamento com o 4-PSQ reduziu os comportamentos semelhantes à ansiedade, depressão e o déficit de memória observados nos ratos obesos (RODRIGUES et al., 2021a). Também utilizando um protocolo de obesidade induzida por administração neonatal de glutamato monossódico em ratos, Rodrigues e colaboradores (2021a) observaram que o composto 4-PSQ reverteu o dano hepático causado pela administração repetida de glutamato monossódico. O composto 4-PSQ atenuou o aumento dos marcadores bioquímicos plasmáticos em ratos, reverteu o aumento no conteúdo de lipoperoxidação e atenuou as alterações histológicas induzidas no modelo de obesidade hipotalâmica (RODRIGUES et al, 2021b).

Recentemente, De Oliveira e colaboradores (2022) observaram que o 4-PSQ exibiu um efeito antidepressivo e diminuiu o comprometimento da memória induzido por estresse de restrição agudo em camundongos. Acredita-se que os resultados observados estão associados a capacidade do 4-PSQ de diminuir a ativação do eixo HPA, as alterações no sistema monoaminérgico, modular o estresse oxidativo, restaurar a neuroplasticidade, modular o sistema colinérgico e atenuar a neuroinflamação (DE OLIVEIRA et al., 2022).

As propriedades farmacológicas do 4-PSQ vêm sendo investigadas frente a toxicidade causada pela administração de OXA (REIS et al., 2020a, 2020b, 2022; LEMOS et al., 2021; DA MOTTA et al., 2021). Reis e colaboradores (2020a) demonstraram que o 4-PSQ foi efetivo em melhorar a neuropatia periférica, reduzindo a sensibilidade mecânica e térmica induzidas pela OXA. Os dados obtidos revelaram que o composto foi eficaz em reverter os níveis aumentados de EROs na medula espinhal, córtex cerebral e hipocampo de camundongos expostos a OXA, bem como as alterações na atividade e expressão de glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e acetilcolinesterase induzidas pela exposição a OXA (REIS et al., 2020).

A terapia com 4-PSQ é eficaz em restaurar o comprometimento emocional e cognitivo causado pela OXA em camundongos. Além disso, os efeitos do 4-PSQ parecem ser devidos à regulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) por meio da redução dos níveis de corticosterona no plasma e principalmente sua capacidade de restabelecer a atividade e expressão da enzima Na^+, K^+ -ATPase (REIS et al., 2020b). Em um estudo de nefrotoxicidade, causada por OXA em camundongos, o 4-PSQ também reestabeleceu a atividade enzimática da Na^+, K^+ -ATPase, além de diminuir os níveis de ureia e reestabelecer a homeostase das enzimas antioxidantes e parâmetros de dano oxidativo, reduzindo a toxicidade renal causada pela OXA (DA MOTTA et al., 2021).

Lemos e colaboradores (2021) evidenciaram que o 4-PSQ melhorou as alterações histológicas hepáticas causadas pela OXA, reestabelecendo a atividade das transaminases, diminuindo a oxidação de lipídeos e proteínas; além de reestabelecer a homeostase das enzimas antioxidantes. Além disso, recentemente Reis e colaboradores (2022) exploraram a interface entre a neuropatia periférica aguda e o envelhecimento. A

hipersensibilidade induzida por OXA e agravada pelo envelhecimento foi reduzida pelo 4-PSQ (REIS et al., 2022).

À todas essas vantagens terapêuticas se soma a segurança do composto 4-PSQ. Estudos prévios relacionados à toxicidade do 4-PSQ (dose única de 50 mg/kg e 25 mg/kg) demonstraram que a exposição ao composto não alterou os níveis de ureia e creatinina, e a atividade das transaminases, sugerindo que este não causa toxicidade hepática e renal em camundongos nas doses e pelo período testado (PINZ et al., 2016; REIS et al., 2017). Além disso, os parâmetros de estresse oxidativo no cérebro e no fígado dos camundongos não foram alterados com o tratamento com o 4-PSQ (REIS et al., 2017). Quando doses e tempos distintos foram avaliados, verificou-se que o 4-PSQ não altera o comportamento locomotor e exploratório dos animais (REIS et al., 2020b; PALTIAN et al., 2020). Em nenhum dos estudos realizados até o momento foi observado sinais clássicos de toxicidade e nem mortalidade dos animais. Desta forma, o conjunto de resultados obtidos por nosso grupo de pesquisa, demonstra o potencial farmacológico do 4-PSQ para o tratamento de toxidade causada pela OXA em animais velhos.

4. Capítulo I

Os resultados que fazem parte dessa dissertação estão apresentados sob a forma de manuscrito científico. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências, encontram-se estruturados de acordo com as normas do periódico *Experimental Gerontology*. O presente manuscrito encontra-se submetido a esta revista científica.

4.1 Manuscrito

AGING AND OXALIPATIN EXPOSURE INDUCE HEPATIC AND RENAL OXIDATIVE STRESS IN RATS: BENEFICAL EFFECTS OF 7-CLORO-4- (PHENYLSELANYL)QUINOLINE

Briana B. Lemos^a, Ketlyn P. da Motta^a, Carolina C. Martins^a, Angélica S. Reis^a, Allya Larroza^b,
Juliano A. Roehrs^{b,c}, Diego Alves^b, Cristiane Luchese^{a*&}, Ethel A. Wilhelm^{a*&}

^a*Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Laboratório de Pesquisa em Farmacologia Bioquímica, CCQFA - Universidade Federal de Pelotas, UFPel - CEP - 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.* ^b*Programa de Pós-graduação em Química, Laboratório de Síntese Orgânica Limpa, CCQFA - Universidade Federal de Pelotas, UFPel - CEP - 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.* ^c*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, IFSul -CEP - 96015-360, Pelotas, RS, Brasil.*

& Equal contribution

*Correspondence should be sent to:

Ethel Antunes Wilhelm

E-mail: ethelwilhelm@yahoo.com.br Phone: 55-53-32757356

Cristiane Luchese

E-mail: cristiane_luchese@yahoo.com.br Phone: 55-53-32757233

Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção (PPGBBio), Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Capão do Leão, Pelotas, CEP 96010-900, RS, Brazil

Conflicts of Interest: The authors declare no competing financial interests.

Abstract

The complex aging process can increase the susceptibility to pathologies and to the toxicity of chemical agents. However, few studies have sought to evaluate the toxicological effects of chemotherapy in the elderly. Here, the effects of the association of aging and oxaliplatin (OXA) exposure on kidney and liver of rats and the therapeutic potential of 7-chloro-4-(phenylselanyl)quinoline (4-PSQ) were investigated. To assess these effects, young and aged Wistar rats were divided into four groups: Young adult, Aged, Aged+OXA and Aged+OXA+4-PSQ. Aged+OXA and Aged+OXA+4-PSQ groups received OXA (10 mg/kg) intraperitoneally (i.p.) on days 0 and 2 of the experimental protocol. 4-PSQ (1 mg/kg) was administered intragastrically (i.g.) from days 2 to 14 to animals of Aged+OXA+4-PSQ group. Groups not using OXA treatment received 5% glucose vehicle (i.p.) and groups not receiving 4-PSQ treatment received canola oil (i.g.). On the 15th day, the animals were euthanized. Aging process and OXA exposure induced body weight loss. Liver and kidney damages were verified through increased plasmatic transaminases activities and urea levels. Thiobarbituric acid reactive species (TBARS) levels were increased in the liver but not in the kidney of aged rats. It was shown that in aging, glutathione peroxidase and glutathione reductase activities were inhibited, as well as non-protein thiol (NPSH) levels reduced. Aging process induced an activation of superoxide dismutase (SOD) activity in kidney and inhibited the activity of this enzyme in liver of aged rats. The oxidative stress induced by aging was exacerbated by OXA exposure. Na^+ , K^+ -ATPase activity was inhibited in the kidney of aged rats, as well as δ -aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney, showing oxidative damage to sulfhydryl enzymes. 4-PSQ treatment improved all altered parameters, except for body weight loss of the animals. A negative correlation between plasma urea level and Na^+ , K^+ -ATPase was demonstrated in the kidney of aged animals exposed to OXA. In addition, a positive correlation between plasmatic transaminases activities and hepatic TBARS levels was evidenced. Our results indicate

that OXA exposure exacerbated the oxidative damage induced by aging, in both tissues. 4-PSQ can be a good therapeutic strategy in the treatment of damage caused by aging and OXA exposure, due to its antioxidant action.

Keywords: Aging; nephrotoxicity; hepatotoxicity; oxaliplatin; oxidative stress.

1. Introduction

According to data from the World Health Organization, the world population will have more than 2 billion elderly people in 2050 (World Health Organization, 2019). The aging process is gradual, natural, and inevitable. Aging is characterized by significant changes and by the accumulation of damage to intracellular macromolecules. Furthermore, the aging is related to many other chronic diseases; among these pathologies, cancer stands out for its high prevalence in the elderly (Fulop et al., 2010; Whitehall and Greaves 2020).

Estimates in relation to cancer indicate an increase of 47% in the incidence of cases worldwide in 2040, compared to the year 2020 and it is associated to the increase in the rate of aging of the world population (Sung et al., 2021). In addition, colorectal carcinoma ranks third in incidence and represents 9.4% of the cause of cancer death worldwide (Sung et al., 2021). In elderly people over 70 years of age, the risk of developing colorectal carcinoma is exacerbated (Mattiuzzi, Sanchis-Gomar and Lippi 2019).

Oxaliplatin (OXA) is the main component in colorectal cancer therapy regimens (André et al., 2004; Kutwin et al., 2017). Despite its clinical benefit, the therapeutic use of OXA is challenged by serious adverse effects in different organ systems, including brain, kidney, and liver (Reis et al., 2020; Reis et al., 2020a; Lemos et al., 2021; Da Motta et al., 2021). Considering that: *i*) the world is aging rapidly; *ii*) there is an exacerbated increase in colorectal cancer in the elderly; *iii*) the use of OXA in elderly patients with colorectal cancer becomes inevitable; it is essential to investigate the adverse effects linked to the use of OXA. In this context, it is very important to investigate and understand the relationship between aging and OXA-induced liver and kidney toxicity.

Furthermore, it is important to highlight that the liver and kidney tissues are vitally important for the maintenance of homeostasis, and the injury to one of them triggers pathogenic pathways that affect others (Sharma et al., 2020; Nassar et al., 2021). In addition, the kidney plays

the main role in maintaining the acid-base and electrolyte balances. Indeed, disturbances in these balances are age-related and may be associated with various diseases (Gekle, 2017).

Recently, our research group demonstrated the role of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ) in OXA-induced hepatic and renal toxicities in young adult mice. Our data revealed that the oxidative damage instituted by OXA administration was normalized by 4-PSQ (Lemos et al., 2021; Da Motta et al., 2021). Furthermore, in another study, 4-PSQ was suggested as an alternative to anti-aging therapy by presenting antioxidant action in different tissues of aged rats (Luchese et al., 2020). In addition to its promising antioxidant action, anti-inflammatory, anxiolytic, antidepressant, and neuroprotective actions are also reported (Pinz et al., 2016; Reis et al., 2017; Vogt et al., 2018; De Freitas Couto et al., 2019; Barth et al., 2019; Rodrigues et al., 2021). 4-PSQ is promising for the treatment of metabolic disorders, like diabetes (De Aquino Silva et al., 2021). Importantly, 4-PSQ reduces peripheral neuropathy, anxiety and cognitive impairment induced by OXA in young adult mice (Reis et al., 2020a; Reis et al., 2020b; Reis et al., 2022).

Considering these data, the present study sought to confirm two hypotheses: *i*) aging is a risk factor for kidney and liver damage and it is exacerbated by OXA exposure; and *ii*) 4-PSQ reduces hepatic and renal toxicities induced by aging and OXA exposure, and it may become a promising strategy for the treatment of elderly patients undergoing cancer treatment.

2. Materials and methods

2.1 Animals

The tests were carried out using young adult (3 months old, weighing 180–250 g) and aged (20 months old, weighing 400–700 g) male Wistar rats. Animals were obtained from a local breeding colony. Animal care and all experiments were performed by the recommendations of the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources of the Federal University of

Pelotas, Brazil (CEEAA 4506-2017), and in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH publications no. 80-23, revised in 1996) and International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Animals were maintained at 22 ± 2 °C with free access to water and food, under a 12:12 h light/dark cycle.

2.2 Drugs

The 4-PSQ (Figure 1) was prepared and characterized in our laboratory. Nuclear magnetic resonance analysis (^1H and ^{13}C) showed analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned structure. The chemical purity of 4-PSQ (99.9%) was determined by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) (Duarte et al., 2017).

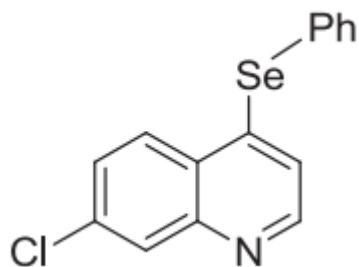


Figure 1. Chemical structure of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ).

4-PSQ and OXA were dissolved in canola oil and 5% glucose solution, respectively. OXA was purchased from commercial sources. All other chemicals used in this study were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers. Rats received treatments intragastrically (i.g. - intragastric gavage) or intraperitoneally (i.p.) at a constant volume of 1 ml/kg of body weight.

2.3 Experimental Protocol

The rats were divided into four groups: I) Young adult; II) Aged; III) Aged+OXA; and IV) Aged+OXA+4-PSQ. On the zero and second day of experimental protocol, Young and Aged groups received 5% glucose solution (1 ml/kg, i.p.), while the rats of the Aged +OXA and Aged+OXA+4PSQ groups received OXA (10 mg/kg, i.p.). On the second day, after 30 min of the treatment with OXA, rats from the Young, Aged and Aged+OXA groups received canola oil (1 ml/kg, i.g.), and Aged+OXA+4-PSQ group received 4-PSQ (1 mg/kg, i.g.), up to the fourteenth day (Figure 2). The difference between the initial body weight, obtained before the start of treatment, and the body weight at the end of treatment, used to monitor body weight gain, was calculated.

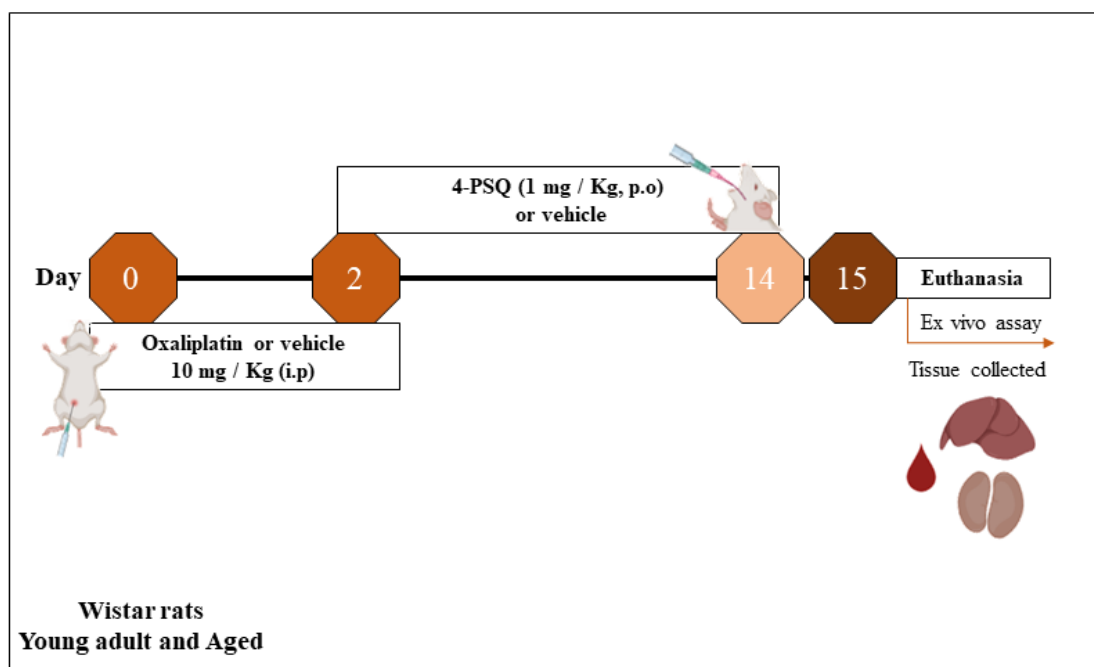


Figure 2. Scheme of the experimental protocol. On day zero and two, rats received either oxaliplatin (OXA) or vehicle (glucose solution), both by intraperitoneal (i.p.) route. On the second day, thirty minutes after OXA administration, the animals received 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ) or canola oil, per oral (p.o.) route, until day 14 of the experimental protocol. On

day 15, 24 hours after the last treatment, animals were sacrificed, and blood, liver and kidneys samples were collected for ex vivo assays (Created with BioRender.com).

2.4 *Ex vivo assays*

At the end the experimental protocol (twenty-four hours after the last treatment), rats were anesthetized with isoflurane and blood samples were collected by cardiac puncture, using heparin to obtain plasma. Blood and the heparin were centrifuged (900xg for 15min), getting the plasma portion for determination of the urea levels, besides aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities.

To obtain tissues, animals were killed by inhalation of isoflurane anaesthetic. The liver and kidneys samples were collected to determine oxidative stress markers, such as the levels of lipid peroxidation through measuring thiobarbituric acid reactive species (TBARS). Determination of antioxidant defenses, as non-protein thiol (NPSH) levels and glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and superoxide dismutase (SOD) activities, were performed. Furthermore, the δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D) and Na^+ , K^+ -ATPase activities were evaluated, as sensitive enzymes to oxidative stress. For these analyses, samples were homogenized in 50 mmol/l Tris HCl pH 7.4 and, centrifuged at 900 x g for 10 min to yield a supernatant (S1).

2.4.1 *Tissues damage markers*

The hepatic and renal damage caused by OXA and/or aging and the pharmacological potential of 4-PSQ were evaluated by plasmatic urea levels and the ALT and AST activities. These biochemical assays were performed using commercial kits (Bioclin, Brazil). AST and ALT activities results were expressed in U/dL. The results of urea levels were expressed in mg/dL.

2.4.2 Oxidative stress involvement

2.4.2.1 Lipid peroxidation levels

To measure lipid peroxidation levels in the liver and kidneys, TBARS levels were determined as described by Ohkawa et al. (1979). The portion of S1 was added to the reaction mixture containing thiobarbituric acid (0.8%), sodium dodecyl sulfate (8.1%) and acetic acid (pH 3.4), and it was incubated for 2 hours at 95°C. The malondialdehyde (MDA) reacts with thiobarbituric acid to generate a chromophore that can be measured spectrophotometrically at 532 nm. Results were expressed as nmol MDA/mg protein.

2.4.2.2 Antioxidant defenses

2.4.2.2.1 NPSH levels

The method used to assess the levels of non-enzymatic antioxidant defense NPSH is described by Ellman (1959). This method consists of mixing S1 with 10% trichloroacetic acid (TCA) (1:1, v/v) and centrifuging the mixture at $900 \times g$ for 10 min. In the clear supernatant, no thiol (SH) groups are present. The supernatant was added to 1 M potassium phosphate buffer pH 7.4 and 10 mM 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The colorimetric reaction was measured at 412 nm in a spectrophotometer. NPSH levels were expressed as nmol NPSH/g tissue.

2.4.2.2.2 SOD activity

Assessment of SOD activity is based on the enzyme's ability to inhibit epinephrine autoxidation. This method is described by Misra and Fridovich (1972) and consists of adding different volumes of S1 (6, 12 or 18 μ L) to a 0.05 M Na_2CO_3 buffer and 30 μ L 4 mM epinephrine (used to start the enzymatic reaction). Color reaction is measured at 480 nm. Results were expressed in units (U)/mg of protein.

2.4.2.2.3 GPx activity

The method described by Wendel (1981), which involves monitoring of the dismutation of H_2O_2 in the presence of S1 at 340 nm, was used for evaluation of GPx activity. In this assay, the enzymatic activity is indirectly measured by NADPH oxidation. S1 was added in a reactional medium containing reduced glutathione (GSH)/NADPH/GR, and the enzymatic reaction was initiated by the addition of H_2O_2 . The enzymatic activity was expressed as nmol NADPH/min/mg protein.

2.4.2.2.4 GR activity

The method for determining the GR activity is described by Carlberg and Mannervik (1985), consisting in the determination of enzyme activity in tissues through the consumption of NADPH to reduce GSSG. Thus, GR activity is proportional to NADPH oxidation, determined spectrophotometrically for 2 min at 340 nm. Enzyme activity results were expressed as nmol NADPH/min/mg protein.

2.4.2.3 Sulfhydryl enzymes sensitive to oxidative stress

2.4.2.3.1 δ -ALA-D activity

In the method described by Sassa (1982), the determination of δ -ALA-D activity occurs from the pre-incubation of an aliquot of S1 in medium containing 45 mM potassium phosphate buffer pH 6.8 for 10 min at 37 °C. The enzymatic reaction is initiated by the addition of the substrate (δ -ALA) at a final concentration of 2.2 mM in the reaction medium. After 1 hour of incubation at 37 °C, the reaction is stopped by adding an aliquot of 10% TCA with 10 mM HgCl_2 . Porphobilinogen (PBG), formed in the reaction, is measured at 555 nm using modified Ehrlich reagent. Values were expressed in nmol PBG/mg protein/hour.

2.4.2.3.2 Na^+ , K^+ ATPase activity

The investigation of Na⁺, K⁺ ATPase activity is based on the method described by Fiske and Subbarow (1925) in which the enzyme activity is calculated from the difference between the amounts of inorganic phosphate (Pi) found after incubation in the absence and presence of ouabain. The reaction medium is composed of S1, 3 mM MgCl₂, 125 mM NaCl, 20 mM KCl and 50 mM Tris/HCl, pH 7.4. The reaction is started by the addition of ATP (final concentration of 3.0 mM) and the samples are incubated at 37 °C for 30 min. The reaction is stopped by adding 10% TCA with 10 mM HgCl₂ and analyzed spectrophotometrically at 650 nm. Results obtained were expressed as nmol Pi/mg protein/min.

2.4.3 Protein quantification

The protein concentration was measured by the method of Bradford (1976), using bovine serum albumin as the standard. The reaction mixture contained S1 (50 µL) and Coomassie brilliant blue (2.5 mL) and it was incubated for 10 min.

2.5 Statistical analysis

The normality of the data was evaluated by the D'Agostino and Pearson omnibus normality test. Statistical analysis was performed using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey's test using the Graphpad Prism® 6.0 software. Values that presented $p < 0.05$ were considered statistically significant and data were expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (S.E.M.). Pearson's correlation coefficient was used for correlation analysis.

3. Results

3.1 4-PSQ does not improve weight loss of aged rats exposed to OXA

Figure 3 shows the results of measuring the body weight ($F_{(3, 24)} = 296.4$, $p < 0.0001$) of rats on days 0 and 14. Animals of the Aged group lost body weight when compared with the Young

Adult group (reduction of about 15g from the initial weight). The administration of OXA induced a greater loss of body weight in aged animals when compared with the Aged and Young adult groups (about 59g reduction in relation to the initial weight). The body weight loss of aged animals exposed to OXA was not reversed by 4-PSQ treatment.

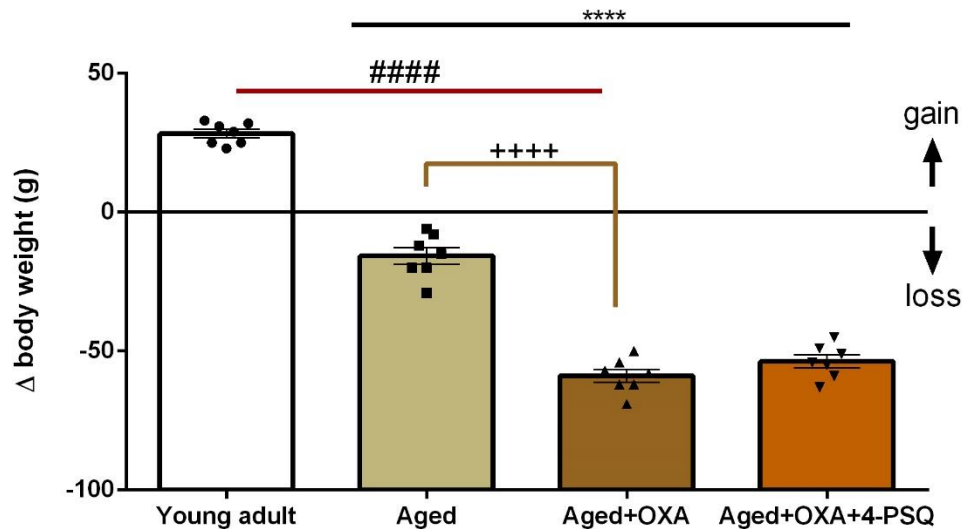


Figure 3. Effects of 4-PSQ on the body weight of aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment. Each column represents mean $\pm$ SEM of 7 rats per group. **** $p < 0.0001$ as compared with the Young Adult group; ##### $p < 0.0001$ as compared with the Aged+OXA+4-PSQ group; +++++ $p < 0.0001$ as compared with the Aged group. (one-way ANOVA followed by the Tukey's test).

3.2 The 4-PSQ attenuates changes induced by aging and OXA exposure in hepatic and renal markers in the plasma rats

The results presented in Table 1 revealed that urea levels ($F_{(3, 24)} = 48.60$, $p < 0.0001$) increased in plasma (93%) of Aged rats when compared with Young Adult rats. Urea levels of aged rats were not altered by OXA administration. Furthermore, treatment with 4-PSQ reduced plasma urea levels by 18% in aged rats that received OXA administration, when compared to animals in the Aged+OXA group. Moreover, treatment with 4-PSQ reduced urea levels by 51% when compared to the Aged group (Table 1).

Table 1. Hepatic and renal markers in the plasma of aged rats after administration of oxaliplatin (OXA, 10 mg/kg) and/or 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline (4-PSQ, 1 mg/kg).

	YOUNG ADULT	AGED	AGED+OXA	AGED+OXA+4-PSQ
UREIA(mg/dL)	58.8±2.1	113.8±5.7****###	108.3±2.6****#	88.7±2.7****
AST(U/dL)	65.6±1.8	106.1±4.6****###	122.3±4.6****@####	73.1±2.2
ALT(U/dL)	40.0±4.4	67.73±3.9****#	84.5±3.1****@####	48.6±1.6

Notes: Values are expressed as mean ± standard error of the mean (S.E.M.) of 7 animals per group. ** denotes $p < 0.01$ and **** $p < 0.0001$ as compared with the Young Adult group. @ denotes $p < 0.05$ as compared with the Aged group. # denotes $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ and #### $p < 0.0001$ as compared with the Aged+OXA+4-PSQ group (One-way analysis of variance/ Tukey's test).

Furthermore, an increase in the activity of transaminases in the plasma of Aged rats was evidenced when compared with the Young Adult group (Table 1). Animals of the Aged+OXA group showed an increase of 15% in AST activity ($F_{(3, 24)} = 57.55$, $p < 0.0001$) and 25% in ALT activity ($F_{(3, 24)} = 33.66$, $p < 0.0001$) when compared with the Aged group. Treatment with 4-PSQ reduced plasma transaminases activities in Aged rats exposed to OXA to the values of the Young Adult group (Table 1).

3.3 OXA-induced lipid peroxidation in aged rats is reduced by 4-PSQ

The Figure 4 shows the results of the TBARS levels in the liver ($F_{(3, 24)} = 30.45$, $p < 0.0001$) and kidney ($F_{(3, 24)} = 6.852$, $p < 0.01$) of Aged rats and the effects of OXA and 4-PSQ treatments. No significant change was observed in TBARS levels in liver and kidney tissues of animals of Aged group when compared to Young adult group. Aged rats exposed to OXA showed an increase in the hepatic TBARS levels by 9% when compared with the Aged group (Figure 4A). The daily administration of 4-PSQ was effective in decrease the hepatic TBARS levels of aged animals exposed to OXA (Figure 4A).

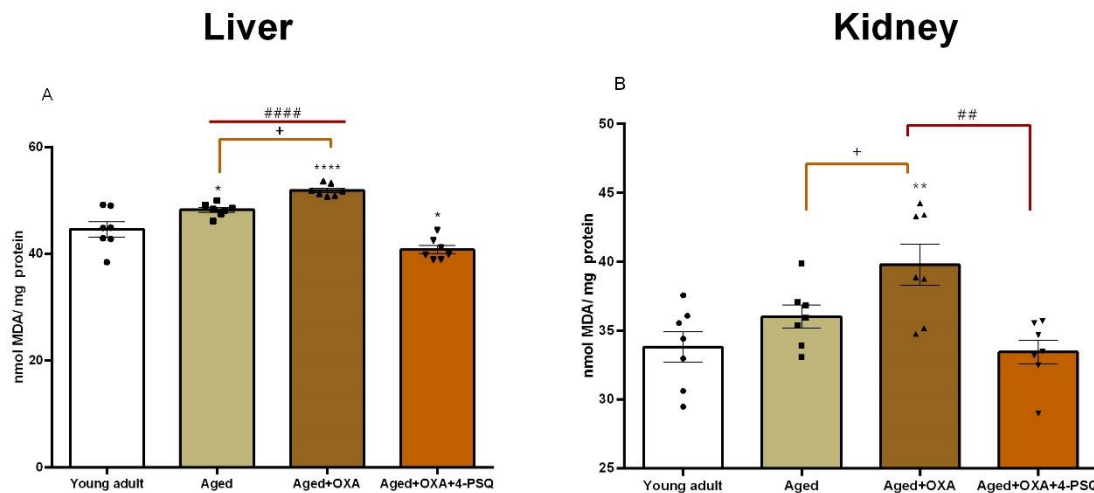


Figure 4. Effects of 4-PSQ on lipid peroxidation levels in liver (a) and kidney (b) of aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment. Each column represents mean $\pm$ SEM of 7 rats per group. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and **** $p < 0.0001$ as compared with the Young adult group; ## $p < 0.01$ and #### $p < 0.0001$ as compared with the Aged+OXA+4-PSQ group; + $p < 0.05$ as compared with the Aged group. (one-way ANOVA followed by the Tukey's test).

Furthermore, the results showed that TBARS levels in the renal tissue of aged animals that received administration of OXA increased by 10% as compared with the Aged group (Figure 4B). The compound 4-PSQ was able to attenuate this damage, decreasing renal TBARS levels of animals of the Aged+OXA+4-PSQ group to the values of the Young Adult group.

3.4 Antioxidants defenses

3.4.1 4-PSQ improves enzymatic antioxidant defenses

To identify the effects of 4-PSQ on the response to hepatic and renal oxidative damage after exposure of elderly rats to OXA, the activities of SOD, GPx and GR were determined. The

results showed significant differences in enzymes activities in the liver and kidneys of aged rats after exposure to OXA (Figure 5).

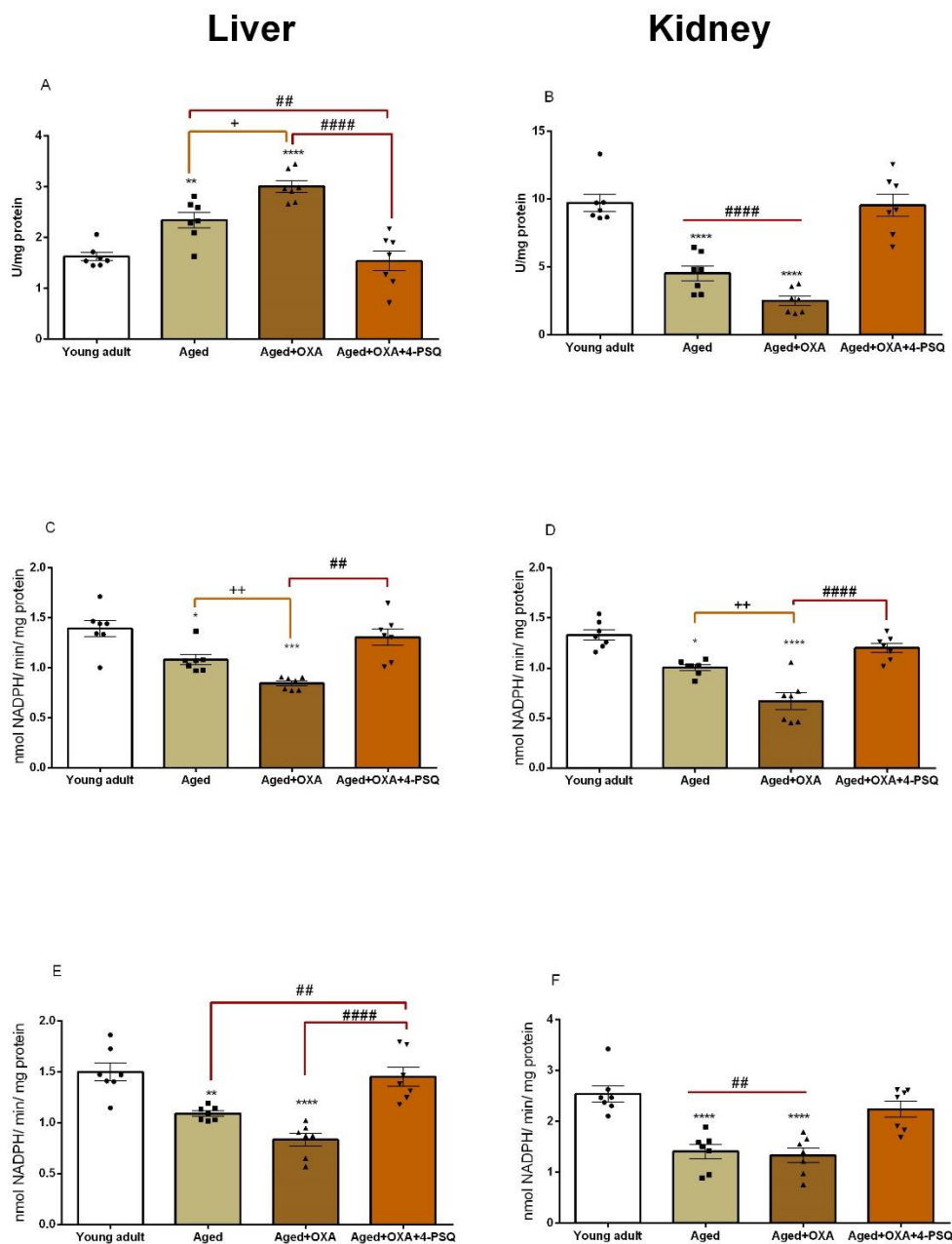


Figure 5. Effects of 4-PSQ on antioxidant enzymes activities of aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment: superoxide dismutase (SOD) in liver (**a**) and kidney (**b**); glutathione peroxidase (GPx) in liver (**c**) and kidney (**d**); glutathione reductase (GR) in liver (**e**) and kidney (**f**). Each column

represents mean $\pm$ SEM of 7 rats per group. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and **** $p < 0.0001$ as compared with the Young adult group; ## $p < 0.01$ and #### $p < 0.0001$ as compared with the Aged+OXA+4-PSQ group; + $p < 0.05$ and ++ $p < 0.01$ as compared with the Aged group. (one-way ANOVA followed by the Tukey's test).

The results in Figure 5A shows that hepatic SOD activity ($F_{(3, 24)} = 23.30$, $p < 0.0001$) of Aged animals was increased by 44% compared with the Young adult group. OXA exposure increased 28% the hepatic SOD activity of aged rats. On the other hand, in the kidney ($F_{(3, 24)} = 33.43$, $p < 0.0001$) of aged rats, SOD activity was inhibited (around 47%) when compared with the Young adult (Figure 5B). SOD activity of aged rats was inhibited by 50% after OXA exposure compared with the Aged group (Figure 5B). 4-PSQ normalized the SOD activity of aged rats exposed to OXA to the levels of the Young Adult group, in both tissues (Figure 5A-B).

Figures 5C and 5D show that aging process induced an inhibition of hepatic (around 22%) ($F_{(3, 24)} = 14.68$, $p < 0.0001$) and renal (around 24%) ($F_{(3, 24)} = 26.81$, $p < 0.0001$) GPx activity when compared with the Young adult groups. Hepatic and renal GPx activities of aged rats were inhibited by OXA exposure (around 22% in liver and 33% in kidney). 4-PSQ normalized the GPx activity in liver and kidney of aged rats exposed to OXA to the levels of the Young adult group.

In the liver, GR activity ($F_{(3, 24)} = 18.98$, $p < 0.0001$) was inhibited (around 27%) by aging when compared with the Young adult group (Figure 5E). OXA exposure did not alter the inhibition of hepatic GR activity induced by aging in rats. Figure 5F shows that aging inhibited the renal GR activity ($F_{(3, 24)} = 16.28$, $p < 0.0001$) of aged rats (around 45%) when compared with the Young Adult group. Renal GR activity of aged rats was not altered by OXA. 4-PSQ normalized the hepatic and renal GR activities of aged rats exposed to OXA to the levels of the Young adult group.

3.4.2 Hepatic and renal NPSH levels are restored by 4-PSQ treatment

The results showed in Figure 6 revealed that NPSH levels in the liver ($F_{(3, 24)} = 22.72$, $p < 0.0001$) and kidneys ($F_{(3, 24)} = 40.96$, $p < 0.0001$) of aged rats exposed to OXA were reduced when compared to Young adult group. However, OXA exposure did not alter the hepatic NPSH levels of aged rats. In the Aged group, the hepatic NPSH levels were reduced by 8% when compared with the Young adult group. (Figure 6A).

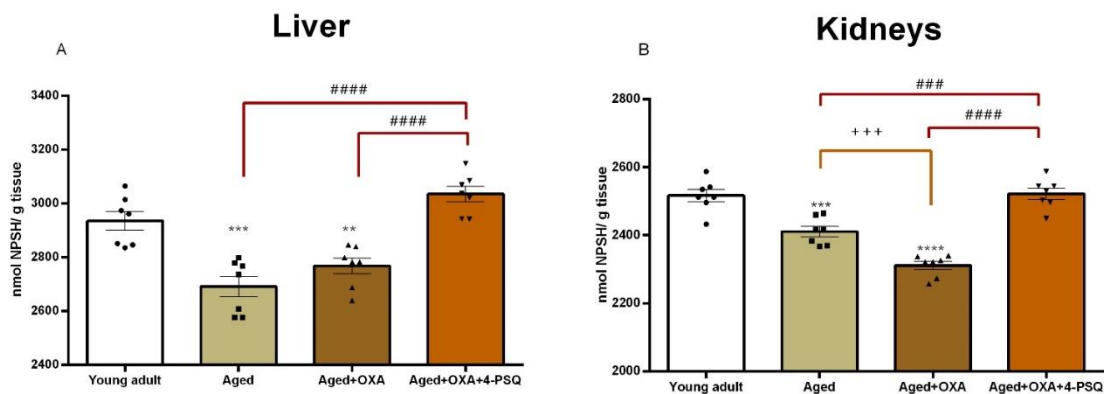


Figure 6. Effects of 4-PSQ on non-protein thiol (NPSH) levels in liver (a) and kidney (b) aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment. Each column represents mean $\pm$ SEM of 7 rats per group. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ and **** $p < 0.0001$ as compared with the Young adult group; ### $p < 0.001$ and #### $p < 0.0001$ as compared with the Aged+OXA+4-PSQ group; +++ $p < 0.001$ as compared with the Aged group. (one-way ANOVA followed by the Tukey's test).

The aging process induced a reduction in the renal NPSH levels when compared with the Young adult group. Furthermore, in renal tissue, OXA exposure reduced around 4% the NPSH levels of aged rats. 4-PSQ improved NPSH levels in both tissues, restoring this antioxidant defense to the levels of the Young adult group (Figure 6B).

3.5 *The 4-PSQ compound restores the activity of sulfhydryl enzymes sensitive to OXA-induced oxidative stress in aged rats*

Aging and OXA exposure did not modify the hepatic δ -ALA-D activity ($F_{(3, 24)} = 12.04$, $p < 0.0001$) when compared with the Young adult group. However, the administration of 4-PSQ caused an increase in hepatic δ -ALA-D activity in the Aged+OXA+4-PSQ group, being significantly different from all other groups (Figure 7A).

The Figure 7B shows an inhibition of renal δ -ALA-D activity ($F_{(3, 24)} = 6.130$, $p < 0.01$) by 37% in the Aged+OXA group as compared with the Young Adult group. Renal δ -ALA-D activity of aged rats was inhibited by OXA exposure (around 30%) as compared with the Aged group. 4-PSQ normalized the δ -ALA-D activity of kidney of aged rats exposed to OXA to the levels of the Young adult group.

Sulfhydryl enzymes sensitive to oxidative stress

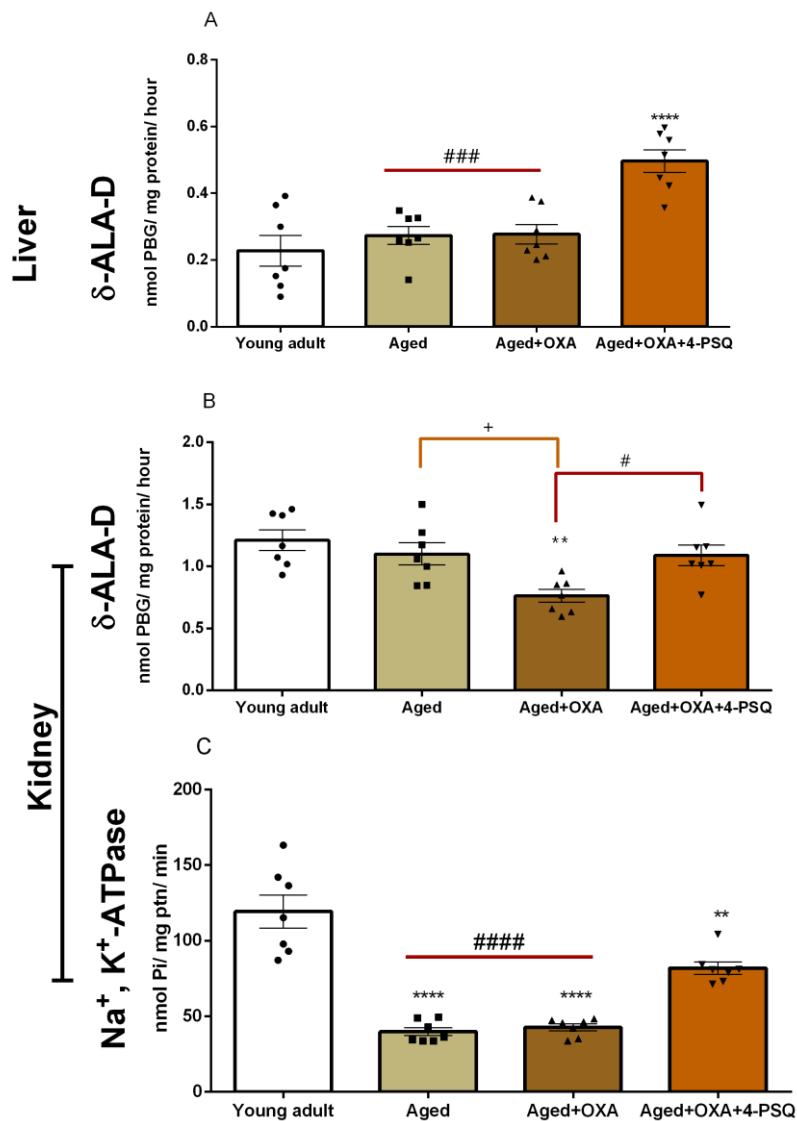


Figure 7. Effects of 4-PSQ on the activity of sulfhydryl enzymes sensitive to oxidative stress in aged rats after oxaliplatin (OXA) treatment: δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D) in liver (a) and kidney (b); Na^+ , K^+ -ATPase in kidney (c). Each column represents mean $\pm$ SEM of 7 rats per group. ** $p < 0.01$ and **** $p < 0.0001$ as compared with the Young adult group; # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ and **** $p < 0.0001$ as compared with the Aged+OXA+4-PSQ group; + $p < 0.05$ as compared with the Aged group. (one-way ANOVA followed by the Tukey's test).

Renal Na^+ , K^+ -ATPase activity ($F_{(3, 24)} = 38.35$, $p < 0.0001$) was inhibited by aging in 66%. Renal Na^+ , K^+ -ATPase activity of aged rats is not altered by OXA. 4-PSQ treatment partially restored Na^+ , K^+ -ATPase activity in kidney of aged rats exposed to OXA (Figure 7C).

3.6 Correlation between plasmatic transaminases activities and lipid peroxidation in the liver after OXA treatment in aged rats.

Pearson's correlation test was performed to evaluate the correlation between plasmatic transaminases activities and lipid peroxidation levels observed in the liver aged rats exposed to OXA. The results illustrated in Figure 8A showed the correlation coefficients between the AST (U/L) activity in plasma of aged rats and hepatic lipid peroxidation levels ($r = 0.8937$; $p < 0.0001$). Figure 8B showed the correlation coefficients between the ALT (U/L) activity in plasma of aged rats and hepatic lipid peroxidation levels ($r = 0.8911$; $p < 0.0001$). Indeed, all evaluated parameters were positively correlated. In this case, the positive correlation of the data demonstrates a proportional relationship between the transaminases activities in plasma of aged rats and lipid peroxidation levels.

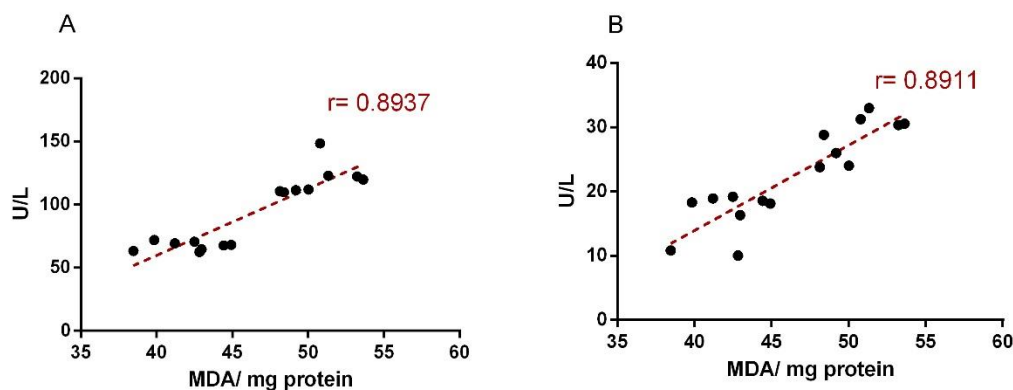


Figure 8. Correlation between plasmatic transaminases activities and lipid peroxidation in the liver of aged rats after OXA treatment. Correlation coefficients between TBARS levels (MDA/mg protein) in the liver and the plasmatic activity of (a)AST and (b)ALT (U/L). Pearson correlation (r) and P-value were used to verify the correlation between data.

3.7 Correlation between plasmatic urea levels of aged rats and renal Na^+ , K^+ -ATPase activity after OXA treatment in aged rats.

Pearson's correlation test was performed to test the correlation between plasmatic urea levels and Na^+ , K^+ -ATPase activity in the kidney after OXA treatment in aged rats. The results illustrated in Figure 9 showed the correlation coefficients between the Urea (mg/dL) levels in plasma of aged rats and Na^+ , K^+ -ATPase activity ($r = -0.8561$; $p < 0.0001$). The negative correlation of the data demonstrates an inversely proportional relationship between plasmatic urea levels of aged rats and renal Na^+ , K^+ -ATPase activity.

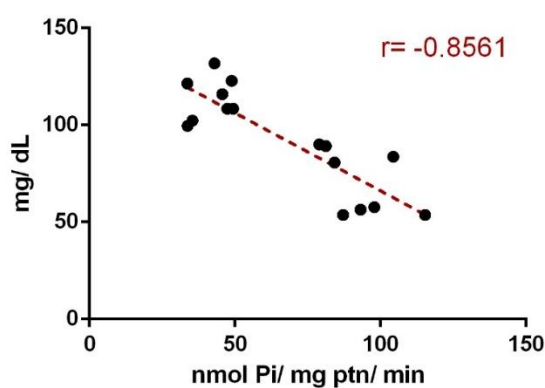


Figure 9. Correlation between plasmatic urea levels (mg/dL) and renal Na^+ , K^+ -ATPase activity (nmol Pi/mg ptn/min) after OXA treatment in aged rats. Pearson correlation (r) and P-value were used to verify the correlation between data.

4. Discussion

The aging is a complex process that can impact the toxicity of several drugs. Then, it is necessary to consider the specificities of elderly patients. In this sense, for the first time, we demonstrated the effects of OXA exposure in kidney and liver of aged rats and the therapeutic potential of 4-PSQ. Indeed, the association of aging process and OXA exposure caused kidney and liver toxicities, evidenced by oxidative damage and increased levels of urea and transaminases activities (AST and ALT) in plasma of rats. The results of our study showed that 4-PSQ can be considered a protective compound in OXA-induced hepatic and renal lesions in aged rats.

Aging is associated with structural and functional changes in organs such as the liver and kidney (Hunt et al., 2019; Schmitt and Melk 2017). Regarding the hepatotoxicity, increased plasmatic transaminases are evidence of liver damage (Hall and Cash 2012). In this context, the leakage and the release of ALT and AST into the bloodstream could be due to an increase in the membrane permeability (Contreras-Zentella and Henandez-Muñoz, 2016). Studies of our research group evidenced that the OXA exposure or the aging process induced liver damage, and it was characterized by increased plasmatic AST and ALT activities (Lemos et al., 2020; Luchese et al., 2020). In the present study, OXA exposure exacerbated the increase in plasmatic AST and ALT activities induced by aging in rats.

Interestingly, OXA exposure aggravated the hepatic lipid peroxidation induced by aging in rats. Indeed, OXA has been described to induced lipid peroxidation and, therefore, could impaired the cellular transport by compromising the membrane functionality (Mameri et al., 2021). In hepatocytes, the modification of the autophagic profile is described during aging and a decrease in autophagy led to high levels of lipid peroxidation and the elevation of ALT (Hunt et al., 2019, Xie et al., 2020). Results of the present study revealed a positive correlation between transaminases activities and TBARS levels in the liver of aged rats that received OXA administration, indicating

that OXA increased liver damage by increasing lipid peroxidation, which seems to be a key mechanism first observed in aged rats exposed to OXA.

Increased levels of lipid peroxidation in kidney of aged rats exposed to OXA was also observed and this factor could contribute to the renal damage induced by the chemotherapeutic agent studied. As a result of kidney damage, in the present study an increase in plasmatic urea levels was evidenced in aged rats, regardless of OXA exposure. Urea is a product of the metabolization of proteins destined for renal excretion, and an increase of its plasmatic levels is considered as a marker of renal damage, characterizing malfunction and low excretion of the kidneys (Gounden, Bhatt and Jialal 2020). Recently, our research group demonstrated that aging favors damage to various tissues, including kidney (Luchese et al., 2020). Indeed, increased levels of urea circulating in the blood has been showed in aging (El-Horany, Gaballah and Helal 2020) and in young mice exposed to OXA (Da Motta et al., 2021), evidencing the presence of damage to kidney cells in these situations. However, in this study, the OXA exposure did not change the plasmatic levels of urea in aged rats.

Studies have suggested that oxidative stress has important contribution to liver and kidney toxicities caused by the administration of OXA, as well as in the aging process (Santoro et al., 2016; Luchese et al., 2020; da Motta et al., 2021). Based on this evidence, we evaluated the involvement of antioxidant defenses in the hepatic and renal damage induced by aging process and OXA exposure. In the present study, it was shown that important antioxidant enzymes such as SOD, GPx and GR changed their activity due to aging process and interestingly, the adaptive responses of SOD and GPx were further compromised after OXA exposure in aged rats.

The nuclear factor erythroid 2–related factor 2 (Nrf2) is responsible for regulating the basal and inducible expression of many antioxidant enzymes, including SOD, GPx and GR. In fact, Nrf2 has been reported as a pathway involved in situations of hepatotoxicity and nephrotoxicity; above

all, Nrf2 is one of the main pathways affected by OXA that favors the development of oxidative stress as well as the cell death (Sajadimajd and Khazaei 2018, Luo et al., 2020). In this line, Lu et al. (2020) showed that the loss of the Nrf2 gene is identified as an aggravating factor in OXA toxicity; in addition, aging is associated with loss of Nrf2 protein homeostasis, decreasing its levels and its activation (Schmidlin et al., 2019). In agreement with these statements, the results of the present study showed a decrease in GPx and GR activities, in both tissues and the decrease in SOD activity in the kidney of animals of Aged and Aged+OXA groups. In addition, an increase in hepatic SOD activity of these animals may be due to a compensatory mechanism for the high generation of RS. In this context, Rizvi and Maurya (2007) found the activity of enzymes such as SOD and catalase elevated in human plasma from old individuals, with a positive correlation with age.

Another point to be noted is the reduction of the NPSH levels induced by aging in both tissues. Reduced glutathione (GSH) plays an important role in detoxification and protection against oxidative damage (Meister, 1994). Notably, GSH is the main non-protein thiol found in the NPSH test (Meister and Anderson 1983). In the present study, a more significant deficit in NPSH levels was observed in the kidney of elderly animals treated with OXA, when compared with Aged group. As GSH is involved in the detoxification of xenobiotics with glutathione s-transferase (GST) (Townsend and Tew 2003), we can hypothesize that the renal depletion of NPSH is more accentuated after OXA exposure due to the important role of the kidney in the process of excretion and detoxification - which is affected by OXA.

Another important finding of the present study is the negative correlation observed between plasmatic urea levels and renal Na^+ , K^+ -ATPase activity. This data corroborates with the study of Silva and collaborators (2002) because high levels of urea are responsible for the inactivation of the enzyme Na^+ , K^+ -ATPase. In the kidney, Na^+ , K^+ -ATPase maintains the intracellular ion balance

and the membrane potential. It is one key enzyme in the electrolyte regulation, by catalyzing active transport of Na^+ in exchange for K^+ . The enzyme Na^+ , K^+ -ATPase plays an important role in renal homeostasis, and changes in its functionality contribute to the decline of renal function in the elderly (Silva et al., 2010). This enzyme is also described as being inactivated by platinum-based drugs, resulting in renal toxicity (Gekle, 2017; Reis et al., 2020a; Kubala et al., 2014). Although the association of reduced expression of the Na^+ , K^+ -ATPase $\beta 1$ subunit and OXA resistance in cancer cells has already been demonstrated, in the present study the activity of the Na^+ , K^+ -ATPase was independent of the administration of OXA, an unexpected result (Tummala et al., 2009). However, the inhibition of Na^+ , K^+ -ATPase activity, a sulfhydryl enzyme sensitive to oxidative stress, could be explained by the development of oxidative damage in the kidney of aged rats, as evidenced by an increase of the lipid peroxidation levels.

Another sulfhydryl enzyme sensitive to oxidative stress evaluated was the δ -ALA-D (Rocha et al., 2012; Liu et al., 2017). In the kidneys, the inhibition of δ -ALA-D activity and an enhancement of the lipid peroxidation were only observed in aged rats exposed to OXA. In contrast, it is important highlight that OXA exposure did not alter the hepatic δ -ALA-D activity in aged rats, although the oxidative stress has been established in animals of this group. In accordance with previous study (Luchese et al., 2020), the hepatic δ -ALA-D activity was also not altered by aging process.

After identifying the potential renal and hepatic toxicity of OXA in aged rats, an important step of the present study was evaluate the pharmacological properties of 4-PSQ. Previous studies from our research group indicated that 4-PSQ is effective as anti-aging therapy (Bath et al., 2019; Luchese et al., 2020) by modulating neuroplasticity, acetylcholinesterase activity, cholesterol levels and by its important antioxidant action. In parallel, important data revealed that 4-PSQ reduced the peripheral neuropathy, anxiety, cognitive impairment, renal and hepatic toxicities

induced by OXA in young adult mice (Reis et al., 2020a; Reis et al., 2020b; Lemos et al., 2021; Da Motta et al., 2021; Reis et al., 2022). Here, when these two factors were considered, 4-PSQ treatment was effective. As expected, 4-PSQ reduced the toxicity in liver and kidney of aged rats exposed to OXA. 4-PSQ was effective in restoring the activity of the antioxidant enzymes, improving the redox state in both tissues, which can be attributed to its antioxidant action. In addition, the present study contributed to the understanding of the toxicity of OXA when associated to aging process and revealed the potential of 4-PSQ as therapy, confirming our two hypotheses. The obtained data reinforce that the specificities of the age should be considered, in special undergoing cancer treatment.

5. Conclusion

Our data reinforced the involvement of oxidative stress in the aging process and revealed that the use of OXA can be an aggravating factor in renal and hepatic age-associated oxidative damage. In fact, there are a vast body of evidence reporting OXA toxicity, but little, if any, considering the age factor. In addition, the beneficial action of the compound 4-PSQ improving renal and hepatic oxidative damage in aged rats exposed to OXA was demonstrated.

6. Funding information/acknowledgments

We are grateful to Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (429859/2018-0, 312747/2020-9), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) (PqG 17/2551-0001013-2, PRONEM 16/2551-0000240-1), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior–Brasil (CAPES) (Financial Code 001) and L'ORÉAL-UNESCO-ABC “Para Mulheres na Ciência” for the financial support. C.L., E.A.W. and D.A. are recipients of CNPq fellowship.

7. Author contributions

B.B.L., K.P.M., A.S.R., C.C.M., C.L., and E.A.W. conceived and designed the study. D.A., J.A.R., and A.L. performed the 4-PSQ synthesis. B.B.L. and E.A.W. wrote the manuscript. E.A.W. and C.L. supervised the study. All authors approved the final version of the manuscript.

8. References

André, T., Boni, C., Mounedji-Boudiaf, L., Navarro, M., Tabernero, J., Hickish, T., De Gramont, A. et al. (2004). Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *New England Journal of Medicine*, 350(23), 2343-2351.

Barth, A., Vogt, A. G., Dos Reis, A. S., Pinz, M. P., Krüger, R., Domingues, W. B., Luchese, C. et al. (2019). 7-Chloro-4-(phenylselanyl) quinoline with memory enhancer action in aging rats: modulation of neuroplasticity, acetylcholinesterase activity, and cholesterol levels. *Molecular neurobiology*, 56(9), 6398-6408. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1530-5>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Carlberg, I., Mannervik, B. (1985). Glutathione Reductase (GSR). In *Methods In Enzymology*, 113. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13062-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13062-4)

Chen, W., Lian, W., Yuan, Y., Li, M. (2019). The synergistic effects of oxaliplatin and piperlongumine on colorectal cancer are mediated by oxidative stress. *Cell death & disease*, 10(8), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1824-6>

Contreras-Zentella, M. L., Hernández-Muñoz, R. (2016). Is liver enzyme release really associated with cell necrosis induced by oxidant stress?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3529149>

da Motta, K. P., Lemos, B. B., Paltian, J. J., Reis, A. S., Blödorn, G. B., Alves, D., Wilhelm, E. A. et al. (2021). 7-Chloro-4-(phenylselanyl) quinoline reduces renal oxidative stress induced by oxaliplatin in mice. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 99(10), 1102-1111. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2021-0090>

da Motta, K. P., Santos, B. F., Domingues, N. L. D. C., Luchese, C., Wilhelm, E. A. (2021a). Target enzymes in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in Swiss mice: A new acetylcholinesterase inhibitor as therapeutic strategy. *Chemico-biological interactions*, 109772. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109772>

de Aquino Silva, D., Silva, M. R. P., Guerra, G. P., do Sacramento, M., Alves, D., Prigol, M. (2021). 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline co-treatment prevent oxidative stress in diabetic-like phenotype induced by hyperglycemic diet in *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 239, 108892. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108892>

de Freitas Couto, S., Araujo, S. M., Bortolotto, V. C., Poetini, M. R., Pinheiro, F. C., Musachio, E. A. S., Prigol, M. et al. (2019). 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline prevents dopamine depletion in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's-like disease. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 54, 232-243. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.10.015>

Duarte, L. F. B., Barbosa, E. S., Oliveira, R. L., Pinz, M. P., Godoi, B., Schumacher, R. F., Alves, D. et al. (2017). A simple method for the synthesis of 4-arylselanyl-7-chloroquinolines used as in vitro acetylcholinesterase inhibitors and in vivo memory improvement. *Tetrahedron Letters*, 58(33), 3319–3322. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.07.039>

El-Horany, H. E. S., Gaballah, H. H., Helal, D. S. (2020). Berberine ameliorates renal injury in a rat model of D-galactose-induced aging through a PTEN/Akt-dependent mechanism. *Archives of physiology and biochemistry*, 126(2), 157-165. <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1499117>

Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), 70-77.

- Fiske, C. H., Subbarow, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, 66(2), 375-400. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84756-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84756-1)
- Fulop, T., Larbi, A., Witkowski, J. M., McElhaney, J., Loeb, M., Mitnitski, A., Pawelec, G. (2010). Aging, frailty and age-related diseases. *Biogerontology*, 11(5), 547-563.
- Gekle, M. (2017). Kidney and aging—a narrative review. *Experimental gerontology*, 87, 153-155. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.03.013>
- Gounden, V., Bhatt, H., & Jialal, I. (2020). Renal Function Tests. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. PMID: 29939598
- Hall, P., Cash, J. (2012). What is the real function of the liver ‘function’ tests?. *The Ulster medical journal*, 81(1), 30. PMID: 23536736
- Hunt, N. J., Kang, S. W. S., Lockwood, G. P., Le Couteur, D. G., Cogger, V. C. (2019). Hallmarks of aging in the liver. *Computational and structural biotechnology journal*, 17, 1151-1161. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.07.021>
- Kubala, M., Geleticova, J., Huliciak, M., Zatloukalova, M., Vacek, J., Sebel, M. (2014). Na⁺/K⁺-ATPase inhibition by cisplatin and consequences for cisplatin nephrotoxicity. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, 158(2). <https://doi.org/10.5507/bp.2014.018>
- Kutwin, M., Sawosz, E., Jaworski, S., Hinzmann, M., Wierzbicki, M., Hotowy, A., Chwalibog, A. et al. (2017). Investigation of platinum nanoparticle properties against U87 glioblastoma multiforme. *Archives of medical science: AMS*, 13(6), 1322.
- Lemos, B. B., Motta, K. P. D., Paltian, J. J., Reis, A. S., Blödmann, G. B., Soares, M. P., Wilhelm, E. A. et al. (2021). Role of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline in the treatment of oxaliplatin-induced hepatic toxicity in mice. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 99(4), 378-388. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0134>
- Liu, J., Yan, Y., Nie, Y., Shapiro, J. I. (2017). Na/K-ATPase signaling and salt sensitivity: The role of oxidative stress. *Antioxidants*, 6(1), 12–14. <https://doi.org/10.3390/antiox6010018>

- Lu, Y., Wu, S., Xiang, B., Li, L., Lin, Y. (2020). Curcumin attenuates oxaliplatin-induced liver injury and oxidative stress by activating the Nrf2 pathway. *Drug design, development and therapy*, 14, 73. <https://dx.doi.org/10.2147%2FDDDT.S224318>
- Luchese, C., Barth, A., da Costa, G. P., Alves, D., Novo, D. L. R., Mesko, M. F., Wilhelm, E. A. (2020). Role of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline as an anti-aging drug fighting oxidative damage in different tissues of aged rats. *Experimental gerontology*, 130, 110804. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110804>
- Luo, J., Mills, K., le Cessie, S., Noordam, R., van Heemst, D. (2020). Ageing, age-related diseases and oxidative stress: what to do next?. *Ageing research reviews*, 57, 100982. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100982>
- Mameri, A., Bournine, L., Mouni, L., Bensalem, S., Iguer-Ouada, M. (2021). Oxidative stress as an underlying mechanism of anticancer drugs cytotoxicity on human red blood cells' membrane. *Toxicology in Vitro*, 72, 105106. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105106>
- Mattiuzzi, C., Sanchis-Gomar, F., Lippi, G. (2019). Concise update on colorectal cancer epidemiology. *Annals of translational medicine*, 7(21).
- Meister, A. (1994). Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *Journal of Biological Chemistry*, 269(13), 9397-9400. PMID: 8144521
- Meister, A., Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 52(1), 711-760. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003431>
- Misra, H. P., Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 247(10), 3170–3175.
- Nassar, M., Nso, N., Medina, L., Ghernautan, V., Novikov, A., El-Ijla, A., Daoud, A. et al. (2021). Liver Kidney Crosstalk: Hepatorenal Syndrome. *World Journal of Hepatology*, 13(9), 1058-1068. <https://doi.org/10.4254/wjh.v13.i9.1058>

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)

Pinz, M., Reis, A. S., Duarte, V., da Rocha, M. J., Goldani, B. S., Alves, D., Wilhelm, E. A. et al. (2016). 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. *European journal of pharmacology*, 780, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.039>

Reis, A. S., Martins, C. C., da Motta, K. P., Paltian, J. J., Costa, G. P., Alves, D., Wilhelm, E. A. et al. (2022). Interface of Aging and Acute Peripheral Neuropathy Induced by Oxaliplatin in Mice: Target-Directed Approaches for Na⁺, K⁺—ATPase, Oxidative Stress, and 7-Chloro-4-(phenylselenyl) quinoline Therapy. *Molecular neurobiology*, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02659-5>

Reis, A. S., Paltian, J. J., Domingues, W. B., Costa, G. P., Alves, D., Giongo, J. L., Wilhelm, E. A. et al. (2020a). Pharmacological modulation of Na⁺, K⁺-ATPase as a potential target for OXA-induced neurotoxicity: Correlation between anxiety and cognitive decline and beneficial effects of 7-chloro-4-(phenylselenyl) quinoline. *Brain Research Bulletin*, 162, 282-290. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.06.021>

Reis, A. S., Paltian, J. J., Domingues, W. B., Novo, D. L., Costa, G. P., Alves, D., Wilhelm, E. A. et al. (2020b). Advances in the Understanding of Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy in Mice: 7-Chloro-4-(Phenylselenyl) Quinoline as a Promising Therapeutic Agent. *Molecular Neurobiology*, 57(12), 5219-5234. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02048-4>

Reis, A. S., Pinz, M., Duarte, L. F. B., Roehrs, J. A., Alves, D., Luchese, C., Wilhelm, E. A. et al. (2017). 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system. *Journal of Psychiatric Research*, 84, 191–199. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.10.007>

Rizvi, S. I., Maurya, P. K. (2007). Alterations in antioxidant enzymes during aging in humans. *Molecular biotechnology*, 37(1), 58-61. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0048-7>

- Rocha, J. B. T., Saraiva, R. A., Garcia, S. C., Gravina, F. S., Nogueira, C. W. (2012). Aminolevulinate dehydratase (δ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. *Toxicology Research*, 1(2), 85–102. <https://doi.org/10.1039/c2tx20014g>
- Rodrigues, K. C., Bortolatto, C. F., da Motta, K. P., de Oliveira, R. L., Paltian, J. J., Krüger, R., Luchese, C. et al. (2021). The neurotherapeutic role of a selenium-functionalized quinoline in hypothalamic obese rats. *Psychopharmacology*, 238, 1937–1951.
- Sajadimajd, S., Khazaei, M. (2018). Oxidative stress and cancer: the role of Nrf2. *Current cancer drug targets*, 18(6), 538-557. <https://doi.org/10.2174/1568009617666171002144228>
- Santoro, V., Jia, R., Thompson, H., Nijhuis, A., Jeffery, R., Kiakos, K., Hochhauser, D. et al. (2016). Role of reactive oxygen species in the abrogation of oxaliplatin activity by cetuximab in colorectal cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 108(6), 1-11. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv394>
- Sassa, S. (1982). Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. *Enzyme*, 28(2–3), 133–143. <https://doi.org/10.1159/000459097>
- Schmidlin, C. J., Dodson, M. B., Madhavan, L., Zhang, D. D. (2019). Redox regulation by NRF2 in aging and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 134, 702-707. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.016>
- Schmitt, R., Melk, A. (2017). Molecular mechanisms of renal aging. *Kidney international*, 92(3), 569-579. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.02.036>
- Sharma, N., Sircar, A., Anders, H. J., Gaikwad, A. B. (2020). Crosstalk between kidney and liver in non-alcoholic fatty liver disease: mechanisms and therapeutic approaches. *Archives of physiology and biochemistry*, 1-15. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1745851>
- Silva, E., Pinto, V., Simao, S., Serrao, M. P., Afonso, J., Amaral, J., Soares-da-Silva, P. et al. (2010). Renal aging in WKY rats: changes in Na⁺, K⁺-ATPase function and oxidative stress. *Experimental gerontology*, 45(12), 977-983. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.09.012>

- Silva, I. V., Caruso-Neves, C., Azeredo, I. M., Carvalho, T. L., Lara, L. S., de Mello, M. C., Lopes, A. G. (2002). Urea inhibition of renal (Na⁺⁺ K⁺) ATPase activity is reversed by cAMP. *Archives of biochemistry and biophysics*, 406(2), 183-189. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(02\)00405-8](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(02)00405-8)
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249.
- Townsend, D. M., Tew, K. D. (2003). The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, 22(47), 7369-7375. <https://dx.doi.org/10.1038%2Fsj.onc.1206940>
- Tummala, R., Wolle, D., Barwe, S. P., Sampson, V. B., Rajasekaran, A. K., Pendyala, L. (2009). Expression of Na,K-ATPase-β1 subunit increases uptake and sensitizes carcinoma cells to oxaliplatin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64(6), 1187–1194. <https://doi.org/10.1007/s00280-009-0985-x>
- Vogt, A. G., Voss, G. T., de Oliveira, R. L., Paltian, J. J., Duarte, L. F., Alves, D., Luchese, C. et al. (2018). Organoselenium group is critical for antioxidant activity of 7-chloro-4-phenylselenyl-quinoline. *Chemico-biological interactions*, 282, 7-12.
- Wendel, A. (1981). Glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, 77(1967), 325–333. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(81\)77046-0](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(81)77046-0)
- Whitehall, J. C., Greaves, L. C. (2020). Aberrant mitochondrial function in ageing and cancer. *Biogerontology*, 21(4), 445-459. <https://doi.org/10.1007/s10522-019-09853-y>
- World Health Organization. 2019. Ageing. <https://www.who.int/health-topics/ageing#tab=tab_> [Accessed 06 August 2021].
- Xie, Y., Li, J., Kang, R., Tang, D. (2020). Interplay between lipid metabolism and autophagy. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 431. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00431>

5. Discussão

Entender as alterações decorrentes do envelhecimento tem se tornado cada vez mais importante pois a população brasileira, assim como a mundial, vem envelhecendo rapidamente nos últimos anos. Além disso, o envelhecimento pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de outras patologias e de toxicidade por medicamentos. O presente estudo foi pioneiro em demonstrar a relação entre o envelhecimento e a toxicidade induzida pela exposição ao quimioterápico OXA em tecidos renais e hepático. A administração de OXA causou danos renais e hepáticos, evidenciados pelo aumento dos níveis de ureia e da atividade das transaminases (AST e ALT) no plasma e dano oxidativo no rim e fígado de ratos idosos. A exposição a OXA exacerbou o comprometimento das defesas antioxidantes, presente no envelhecimento. Em contrapartida, os resultados obtidos mostraram que o 4-PSQ pode ser considerado um composto promissor no tratamento de lesões induzidas por OXA em ratos idosos. Além disso, foi observado neste estudo que os animais velhos apresentaram uma perda de massa corporal, quando comparados a animais jovens e que a OXA exacerbou essa perda. De fato, a sarcopenia é uma complicação recorrente em pessoas idosas e está associada também a casos de doenças renais (FIELDING et al., 2011; SABATINO et al., 2021). Neste parâmetro o composto não foi capaz de reverter as alterações encontradas.

Estudos anteriores sugerem que o impacto causado pelo envelhecimento leva à diminuição na funcionalidade de órgãos, podendo ocasionar o aparecimento de doenças hepáticas ou renais (KIM et al., 2015; KITAI et al., 2021; SERVIDDIO et al., 2007). Estudos demonstram que o dano hepático causado por dano oxidativo no envelhecimento pode ser evidenciado por um aumento nas atividades de AST e ALT e alteração dos níveis plasmáticos de ureia. Cabe enfatizar que a exposição à OXA também é capaz de favorecer essas alterações (LUCHESE et al., 2020; LEMOS et al., 2020; DA MOTTA et al., 2021). Além disso, níveis aumentados de ureia circulando no sangue podem ser encontrados no envelhecimento, evidenciando a presença de danos às células renais (EL-HORANY, GABALLAH E HELAL 2020).

A exposição à OXA exacerbou a peroxidação lipídica hepática induzida pelo envelhecimento em ratos. Os resultados do presente estudo revelaram uma correlação

positiva entre a atividade das transaminases e os níveis de peroxidação lipídica no fígado de ratos idosos que receberam administração de OXA, o que sugere que a oxidação de lipídios é um dos mecanismos chave na toxicidade hepática observada em ratos idosos expostos a OXA. A modificação do perfil autofágico em células hepáticas é descrita durante o envelhecimento, e a diminuição da autofagia leva a altos níveis de peroxidação lipídica e elevação da ALT; além disso, estudos que investigam o envelhecimento induzido por d-galactose evidenciam um aumento nas transaminases plasmáticas revelando a presença de um dano hepático e a progressão dos danos causados pelo envelhecimento (HUNT et al., 2019, XIE et al., 2020; RAHIMI et al., 2019; KONG et al., 2018).

Níveis aumentados de peroxidação lipídica no rim de ratos idosos expostos a OXA também foram observados e este fator pode explicar o dano renal causado por este quimioterápico. O aumento dos níveis de ureia circulante no sangue tem sido demonstrado no envelhecimento (EL-HORANY, GABALLAH e HELAL 2020) e em camundongos jovens expostos a OXA (DA MOTTA et al., 2021), evidenciando a presença de danos às células renais nestas situações. No entanto, aqui, as alterações nos níveis plasmáticos de ureia induzidas pelo envelhecimento em ratos não foram exacerbadas pela exposição à OXA.

Estudos têm sugerido que o estresse oxidativo tem importante contribuição para a toxicidade hepática e renal causada pela administração de OXA, bem como no processo de envelhecimento (Santoro et al., 2016; LUCHESE et al., 2020; DA MOTTA et al., 2021). Além disso, mudanças na homeostase das enzimas antioxidantes têm sido associadas ao estresse oxidativo (MULLER et al., 2006). Neste estudo, as enzimas SOD, GPx e GR sofreram alterações dependentes da idade e pioraram com a administração de OXA. Nesse sentido, destaca-se o Nrf2, responsável por regular a expressão basal e induzível de muitas enzimas antioxidantes, incluindo SOD, GPx e GR. O Nrf2 tem sido relatado como uma via envolvida em situações de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade; acima de tudo, o Nrf2 está associado como uma das principais vias afetadas pela OXA e, portanto, promove estresse oxidativo e morte celular (SAJADIMAJD e KHAZAEI 2018; LUO et al., 2020). Além disso, o envelhecimento está associado à perda da homeostase da proteína

Nrf2, diminuindo seus níveis e sua ativação (SCHMIDLIN et al., 2019). Destaca-se ainda, os resultados obtidos que revelaram que o composto 4-PSQ foi eficaz em restaurar a atividade dessas enzimas e melhorar o estado redox em ambos os tecidos, o que pode ser atribuído à sua ação antioxidante.

No presente estudo, observou-se uma diminuição significativa nos níveis de NPSH no rim de animais idosos tratados com OXA, quando comparados ao grupo idoso. Estudos demonstram que compostos de platina interagem diretamente com os resíduos de cisteína presente no GSH (DI FRANCESCO et al., 2002; WANG et al., 2016). Além disso, o GSH é o principal tiol não protéico encontrado no teste de determinação dos níveis de NPSH e está envolvido na desintoxicação de xenobióticos juntamente com a glutathione S-transferase (GST) (MEISTER e ANDERSON 1983; TOWNSEND e TEW 2003), podemos supor que a depleção de NPSH nos rins é mais acentuada após a exposição à OXA devido ao importante papel que o rim desempenha no processo de excreção e desintoxicação - que é afetado pela OXA.

Outro parâmetro observado foi a atividade de enzimas sulfidrílicas sensíveis ao estresse oxidativo, como as enzimas δ -ALA-D e Na^+ , K^+ -ATPase (ROCHA et al. 2012; SOARES et al. 2016; LIU et al. 2017). Os resultados revelaram uma inibição da atividade das enzimas δ -ALA-D e Na^+ , K^+ -ATPase no rim de animais idosos que receberam administração de OXA. A enzima Na^+ , K^+ -ATPase tem papel importante na homeostase renal, e alterações na sua funcionalidade contribuem para o declínio da função renal em idosos. Ainda, esta enzima é descrita como sendo inativada por drogas a base de platina, tendo como consequência a toxicidade renal (GEKLE, 2017; REIS et al., 2020b; KUBALA et al., 2014). Além disso, níveis circulantes de ureia aumentados podem levar a inibição desta enzima (Silva et al., 2002). De fato, uma correlação negativa foi observada entre os níveis de ureia no plasma e a atividade renal da Na^+ , K^+ -ATPase. Ainda, a inibição da δ -ALA-D renal foi observada apenas em animais envelhecidos que foram expostos a OXA. O que está de acordo com nosso estudo anterior, uma vez que a atividade hepática de δ -ALA-D também não foi alterada pelo processo de envelhecimento (LUCHESE et al., 2020). Além disso, é importante destacar que a exposição à OXA não alterou a atividade

hepática de δ -ALA-D em ratos idosos, embora o estresse oxidativo tenha sido identificado neste grupo.

Frente a esses resultados, o efeito do tratamento com o 4-PSQ pode estar associado à sua atividade antioxidante (SAVEGNAGO et al. 2013). Acredita-se que o grupo fenilselanil presente na molécula do 4-PSQ tenha papel importante nesta ação, conforme destacado por VOGT e colaboradores (2018). De fato, outros estudos já demonstraram efeitos promissores de moléculas contendo este grupo fenilselanil e suas ações antioxidantes (BAMPI et al. 2020; GALL et al. 2020). Ressalta-se que os resultados obtidos neste estudo reforçam que o 4-PSQ é eficaz como terapia antienvelhecimento e no tratamento da toxicidade induzida por OXA, corroborando com estudos anteriores (BARTH et al., 2019; LUCHESE et al., 2020; REIS et al., 2020a, 2020b, 2022; LEMOS et al., 2021; DA MOTTA et al., 2021).

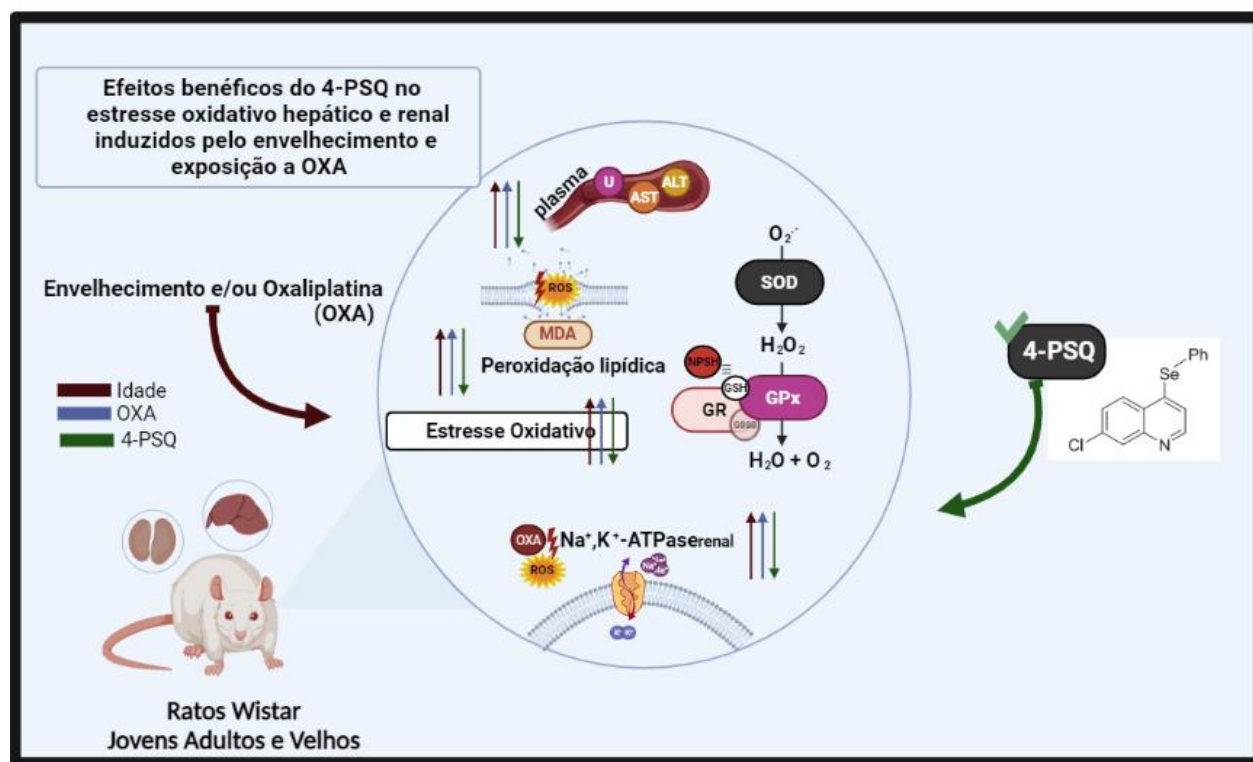


Figura 6. Resumo gráfico do estudo. Fonte: Autoria própria, criado com BioRender.com.

6. Conclusão

Com os resultados obtidos nesse estudo é possível concluir que o 4-PSQ pode atuar efetivamente no tratamento dos danos ocasionados pelo envelhecimento e exacerbados pela exposição à OXA. Ainda, esse estudo reforça o envolvimento do estresse oxidativo no dano causado pela OXA e a influência do envelhecimento na alteração de alguns parâmetros oxidativos, além da ação antioxidante do 4-PSQ.

7. Referências

ASHRY, Mahmoud et al. Nephroprotective Effect of Costus (Saussurea costus) Ethanolic Extract on Oxaliplatin®-induced Nephrotoxicity in Adult Male Wistar Rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS**, v. 24, n. 8, p. 830-839, 2021.

BAMPI, Suely Ribeiro et al. Depression-like behavior, hyperglycemia, oxidative stress, and neuroinflammation presented in diabetic mice are reversed by the administration of 1-methyl-3-(phenylselanyl)-1H-indole. **Journal of Psychiatric Research**, v. 120, p. 91-102, 2020.

BARTH, Anelise et al. 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline with memory enhancer action in aging rats: modulation of neuroplasticity, acetylcholinesterase activity, and cholesterol levels. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 9, p. 6398-6408, 2019.

BOKEMEYER, C. et al. Cetuximab plus 5-FU/FA/oxaliplatin (FOLFOX-4) versus FOLFOX-4 in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): OPUS, a randomized phase II study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 25, n. 18_suppl, p. 4035-4035, 2007.

BORDIN, Diana Lilian. **Ativação de autofagia com oxaliplatina em células de câncer colorretal**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

BOULIKAS, Teni. Molecular mechanisms of cisplatin and its liposomally encapsulated form, Lipoplatin™. Lipoplatin™ as a chemotherapy and antiangiogenesis drug. **Cancer ther**, v. 5, p. 351-376, 2007.

BRANCA, Jacopo Junio Valerio et al. Oxaliplatin-induced blood brain barrier loosening: a new point of view on chemotherapy-induced neurotoxicity. **Oncotarget**, v. 9, n. 34, p. 23426, 2018.

BUFORD, Thomas W. Hypertension and aging. **Ageing research reviews**, v. 26, p. 96-111, 2016.

CHAKRAVARTI, Deepavali; LABELLA, Kyle A.; DEPINHO, Ronald A. Telomeres: history, health, and hallmarks of aging. **Cell**, v. 184, n. 2, p. 306-322, 2021.

CHEN, WeiQian et al. The synergistic effects of oxaliplatin and piperlongumine on colorectal cancer are mediated by oxidative stress. **Cell death & disease**, v. 10, n. 8, p. 1-12, 2019.

COBO, Francesc et al. Oxaliplatin-induced immune hemolytic anemia: a case report and review of the literature. **Anti-cancer drugs**, v. 18, n. 8, p. 973-976, 2007.

CORDANI, Marco et al. Interplay between ROS and autophagy in cancer and aging: from molecular mechanisms to novel therapeutic approaches. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.

DA COSTA RODRIGUES, Karline et al. 4-Phenylselanyl-7-chloroquinoline attenuates hepatic injury triggered by neonatal exposure to monosodium glutamate in rats. **Life Sciences**, v. 280, p. 119751, 2021.

DA MOTTA, Ketlyn P. et al. 7-Chloro-4-(phenylselanyl) quinoline reduces renal oxidative stress induced by oxaliplatin in mice. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 99, n. 10, p. 1102-1111, 2021.

DAI, Dao-Fu et al. Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan. **Longevity & healthspan**, v. 3, n. 1, p. 1-22, 2014.

DE ANDRADE, Kívia Queiroz et al. Oxidative stress and inflammation in hepatic diseases: therapeutic possibilities of N-acetylcysteine. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 12, p. 30269-30308, 2015.

DE OLIVEIRA, Renata L. et al. Prospecting for a quinoline containing selenium for comorbidities depression and memory impairment induced by restriction stress in mice. **Psychopharmacology**, p. 1-23, 2022.

DEAVALL, Damian G. et al. Drug-induced oxidative stress and toxicity. **Journal of toxicology**, v. 2012, 2012.

DI MEO, Sergio; VENDITTI, Paola. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2020, 2020.

DOSPIVOVA, Dana et al. Catalytic electrochemical analysis of platinum in Pt-DNA adducts. **Int. J. Electrochem. Sci**, v. 7, n. 4, p. 3072-3088, 2012.

EL-HORANY, Hemat El-Sayed; GABALLAH, Hanaa Hibishy; HELAL, Duaa Samir. Berberine ameliorates renal injury in a rat model of D-galactose-induced aging through a PTEN/Akt-dependent mechanism. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 126, n. 2, p. 157-165, 2020.

FAKOURI, Nima B. et al. Toward understanding genomic instability, mitochondrial dysfunction and aging. **The FEBS Journal**, v. 286, n. 6, p. 1058-1073, 2019.

FIELDING, Roger A. et al. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 12, n. 4, p. 249-256, 2011.

GALL, Jessica lara et al. Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl) benzofuran in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 102, p. 109956, 2020.

GAO, Yanjie et al. Lycium barbarum: a traditional Chinese herb and a promising anti-aging agent. **Aging and disease**, v. 8, n. 6, p. 778, 2017.

GEBREMEDHN, Endale Gebreegziabher; SHORTLAND, Peter John; MAHNS, David Anthony. The incidence of acute oxaliplatin-induced neuropathy and its impact on treatment in the first cycle: a systematic review. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 1-10, 2018.

GEKLE, Michael. Kidney and aging—a narrative review. **Experimental gerontology**, v. 87, p. 153-155, 2017.

HARUN, Harnavi. Lipid Peroxidation: Aging Kidney. In: **Lipid Peroxidation**. IntechOpen, 2021.

HOU, Yujun et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 10, p. 565-581, 2019.

HUNT, Nicholas J. et al. Hallmarks of aging in the liver. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 17, p. 1151-1161, 2019.

IBRAHIM, Amna et al. FDA drug approval summaries: oxaliplatin. **The Oncologist**, v. 9, n. 1, p. 8-12, 2004.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria journal of medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

İNAL, Mine Erden; KANBAK, Güngör; SUNAL, Emine. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. **Clinica chimica acta**, v. 305, n. 1-2, p. 75-80, 2001.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação**.2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html>. Acesso em: 10 jan. 2022

JIN, Kunlin. Modern biological theories of aging. **Aging and disease**, v. 1, n. 2, p. 72, 2010.

KIDANI, Y. et al. Antitumor activity of 1,2-diaminocyclohexane-platinum complexes against sarcoma-180 ascites form. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 21, n. 12, p. 1315–1318, 1978.

KIM, Hee; KISSELEVA, Tatiana; BRENNER, David A. Aging and liver disease. **Current opinion in gastroenterology**, v. 31, n. 3, p. 184, 2015.

KITADA, Munehiro; OGURA, Yoshio; KOYA, Daisuke. The protective role of Sirt1 in vascular tissue: its relationship to vascular aging and atherosclerosis. **Aging (Albany NY)**, v. 8, n. 10, p. 2290, 2016.

KITAI, Yuichiro; NANGAKU, Masaomi; YANAGITA, Motoko. Aging-Related Kidney Diseases. **Nephrology and Public Health Worldwide**, v. 199, p. 266-273, 2021.

KONG, Song-Zhi et al. Anti-aging effect of chitosan oligosaccharide on d-galactose-induced subacute aging in mice. **Marine Drugs**, v. 16, n. 6, p. 181, 2018.

KUBALA, Martin et al. Na⁺/K⁺-ATPase inhibition by cisplatin and consequences for cisplatin nephrotoxicity. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc**, v. 158, n. 2, 2014

LEMOES, Briana B. et al. Role of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline in the treatment of oxaliplatin-induced hepatic toxicity in mice. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 99, n. 4, p. 378-388, 2021.

LIU, Jiang et al. Na/K-ATPase signaling and salt sensitivity: The role of oxidative stress. **Antioxidants**, v. 6, n. 1, p. 18, 2017.

LÓPEZ-OTÍN, Carlos et al. The hallmarks of aging. **Cell**, v. 153, n. 6, p. 1194-1217, 2013.

LU, Yulei et al. Curcumin attenuates oxaliplatin-induced liver injury and oxidative stress by activating the Nrf2 pathway. **Drug design, development and therapy**, v. 14, p. 73, 2020.

LUCHESI, Cristiane et al. Role of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline as an anti-aging drug fighting oxidative damage in different tissues of aged rats. **Experimental Gerontology**, v. 130, p. 110804, 2020.

LUO, Jing et al. Dietary anti-aging polyphenols and potential mechanisms. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 283, 2021.

MARTÍNEZ DE TODA, Irene et al. Redox parameters as markers of the rate of aging and predictors of life span. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 75, n. 4, p. 613-620, 2020.

MULLER, Florian L. et al. Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 40, n. 11, p. 1993-2004, 2006.

PALTIAN, Jaini J. et al. The anxiolytic effect of a promising quinoline containing selenium with the contribution of the serotonergic and GABAergic pathways: modulation of

parameters associated with anxiety in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 393, p. 112797, 2020.

PEREIRA, Anamaria Falcão. **Participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina em camundongos**. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

PINZ, Mikaela et al. 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European Journal of Pharmacology**, v. 780, p. 122-128, 2016.

PINZ, Mikaela P. et al. Current advances of pharmacological properties of 7-chloro-4-(phenylselenyl) quinoline: prevention of cognitive deficit and anxiety in Alzheimer's disease model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 1006-1014, 2018.

QIU, Wenjing et al. Protection against oxidative stress and anti-aging effect in Drosophila of royal jelly-collagen peptide. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, p. 110881, 2020.

RAHIMI, Vafa Baradaran; ASKARI, Vahid Reza; MOUSAVI, Seyed Hadi. Ellagic acid dose and time-dependently abrogates d-galactose-induced animal model of aging: Investigating the role of PPAR- γ . **Life Sciences**, v. 232, p. 116595, 2019.

RAY, Bhumika; GUPTA, Bhumika; MEHROTRA, Ranjana. Binding of platinum derivative, oxaliplatin to deoxyribonucleic acid: structural insight into antitumor action. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 37, n. 14, p. 3838-3847, 2019.

REIS, Angélica S. et al. 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system. **Journal of psychiatric research**, v. 84, p. 191-199, 2017.

REIS, Angélica S. et al. Advances in the understanding of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in mice: 7-chloro-4-(phenylselenyl) quinoline as a promising therapeutic agent. **Molecular Neurobiology**, v. 57, n. 12, p. 5219-5234, 2020a.

REIS, Angélica S. et al. Interface of Aging and Acute Peripheral Neuropathy Induced by Oxaliplatin in Mice: Target-Directed Approaches for Na⁺, K⁺—ATPase, Oxidative Stress,

and 7-Chloro-4-(phenylselanyl) quinoline Therapy. **Molecular neurobiology**, p. 1-15, 2022.

REIS, Angelica S. et al. Pharmacological modulation of Na⁺, K⁺-ATPase as a potential target for OXA-induced neurotoxicity: Correlation between anxiety and cognitive decline and beneficial effects of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline. **Brain Research Bulletin**, v. 162, p. 282-290, 2020b.

ROBINSON, S. M. et al. Pathogenesis of FOLFOX induced sinusoidal obstruction syndrome in a murine chemotherapy model. **Journal of hepatology**, v. 59, n. 2, p. 318-326, 2013.

ROCHA, Joao BT et al. Aminolevulinate dehydratase (δ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicology Research**, v. 1, n. 2, p. 85-102, 2012.

RODRIGUES, Karline C. et al. The neurotherapeutic role of a selenium-functionalized quinoline in hypothalamic obese rats. **Psychopharmacology**, v. 238, n. 7, p. 1937-1951, 2021.

RUBBIA-BRANDT, Laura et al. Severe hepatic sinusoidal obstruction associated with oxaliplatin-based chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. **Annals of Oncology**, v. 15, n. 3, p. 460-466, 2004.

SABATINO, Alice et al. Sarcopenia in chronic kidney disease: what have we learned so far?. **Journal of Nephrology**, v. 34, n. 4, p. 1347-1372, 2021.

SAJADIMAJD, Soraya; KHAZAEI, Mozafar. Oxidative stress and cancer: the role of Nrf2. **Current cancer drug targets**, v. 18, n. 6, p. 538-557, 2018.

SANTORO, Valeria et al. Role of reactive oxygen species in the abrogation of oxaliplatin activity by cetuximab in colorectal cancer. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 108, n. 6, 2016.

SANTOS, Maria Luísa Cordeiro et al. Nephrotoxicity in cancer treatment: An overview. **World journal of clinical oncology**, v. 11, n. 4, p. 190, 2020.

SAVEGNAGO, Lucielli et al. Synthesis and antioxidant properties of novel quinoline–chalcogenium compounds. **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 1, p. 40-44, 2013.

SCHMIDLIN, Cody J. et al. Redox regulation by NRF2 in aging and disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 134, p. 702-707, 2019.

SERVIDDIO, Gaetano et al. Bioenergetics in aging: mitochondrial proton leak in aging rat liver, kidney and heart. **Redox Report**, v. 12, n. 1-2, p. 91-95, 2007.

SHI, Yan et al. Autophagy protects against oxaliplatin-induced cell death via ER stress and ROS in Caco-2 cells. **PloS one**, v. 7, n. 11, p. e51076, 2012.

SILVA, Ian V. et al. Urea inhibition of renal (Na⁺⁺ K⁺) ATPase activity is reversed by cAMP. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 406, n. 2, p. 183-189, 2002.

SILVA, Vanessa DG et al. Further analysis of acute antinociceptive and anti-inflammatory actions of 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 31, n. 5, p. 513-525, 2017.

SLANE, Benjamin G. et al. Mutation of succinate dehydrogenase subunit C results in increased O₂^{•-}, oxidative stress, and genomic instability. **Cancer research**, v. 66, n. 15, p. 7615-7620, 2006.

SOARES, Mayara Sandrielly Pereira et al. Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats. **Amino Acids**, v. 49, n. 1, p. 129-138, 2017.

STAHL, Elizabeth C. et al. Macrophages in the aging liver and age-related liver disease. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 2795, 2018.

STEIN, Alexander; ARNOLD, Dirk. Oxaliplatin: a review of approved uses. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 13, n. 1, p. 125-137, 2012.

SUNG, Hyuna et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

SWERDLOW, Russell H. Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1812, n. 12, p. 1630-1639, 2011.

TABASSUM, Heena et al. Oxaliplatin-induced oxidative stress provokes toxicity in isolated rat liver mitochondria. **Archives of Medical Research**, v. 46, n. 8, p. 597-603, 2015.

TALENS, Rudolf P. et al. Epigenetic variation during the adult lifespan: cross-sectional and longitudinal data on monozygotic twin pairs. **Aging cell**, v. 11, n. 4, p. 694-703, 2012.

VAUTHEY, Jean-Nicolas et al. Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. **Journal of clinical oncology**, v. 24, n. 13, p. 2065-2072, 2006.

VERAS, Renato. Fórum. Envelhecimento populacional e as informações de saúde do PNAD: demandas e desafios contemporâneos. Introdução. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 2463- 2466, 2007.

VOGT, Ane G. et al. Organoselenium group is critical for antioxidant activity of 7-chloro-4-phenylselenyl-quinoline. **Chemico-Biological Interactions**, v. 282, p. 7-12, 2018.

VOSS, Guilherme T. et al. Therapeutic and technological potential of 7-chloro-4-phenylselenyl quinoline for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions in mice. **Materials Science and Engineering: C**, v. 84, p. 90-98, 2018.

WALY, Mostafa I.; AL MOUNDHRI, Mansour S.; ALI, Badreldin H. Effect of curcumin on cisplatin-and oxaliplatin-induced oxidative stress in human embryonic kidney (HEK) 293 cells. **Renal Failure**, v. 33, n. 5, p. 518-523, 2011.

World Health Organization – WHO. **Ageing and health**. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>. Acesso em: 10 jan. 2022.

World Health Organization – WHO. **Envelhecimento ativo: uma política de saúde**. Organização Pan-Americana da Saúde, 2005. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/7685> . Acesso em: 10 jan. 2022.

XIE, Yangchun et al. Interplay between lipid metabolism and autophagy. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 8, p. 431, 2020.

YAGHOBI JOYBARI, Ali et al. Oxaliplatin-induced renal tubular vacuolization. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 48, n. 6, p. 796-800, 2014.

YAMADA, Shohei et al. A case of biopsy-proven oxaliplatin-induced acute tubulointerstitial nephritis with thrombocytopenia and anemia. **CEN Case Reports**, v. 8, n. 3, p. 188-193, 2019.

ZHANG, Hongqiao; DAVIES, Kelvin JA; FORMAN, Henry Jay. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 88, p. 314-336, 2015.

WANG, Zhimei; WU, Mian; GOU, Shaohua. Toward a better understanding of the oxaliplatin mode of action upon the steric hindrance of 1, 2-diaminocyclohexane and its analogue. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 157, p. 1-7, 2016.

DI FRANCESCO, A. M.; RUGGIERO, A.; RICCARDI, R. Cellular and molecular aspects of drugs of the future: oxaliplatin. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 59, n. 11, p. 1914-1927, 2002.

Anexos

ANEXO A – Projeto aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEa)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

PARECER Nº
PROCESSO Nº

142/2018/CEEa/REITORIA
23110.050294/2018-14

Certificado

Certificamos que a solicitação de **adendo** (mudança de metodologia e acréscimo de animais) à proposta intitulada “**Investigação do papel do envelhecimento na neuropatia induzida por quimioterápicos: 7-cloro-4-(fenilseleno)quinolina como alternativa terapêutica**” processo número 23110.050294/2018-14 (CEEa 4506-2017), de responsabilidade de Ethel Antunes Wilhelm - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua complementação pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 10/12/2018.

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> /Swiss
Nº de animais	Acréscimo de 390
Idade	195 com 2 meses e 195 com 20 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central - UFPel

Código para cadastro CEEa 4506-2017



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, **Médico Veterinário**, em 19/12/2018, às 09:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0394984 e o código CRC 952DA388.



PARECER Nº
PROCESSO Nº

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
39/2020/CEEA/REITORIA
23110.054738/2019-63

Certificado

Certificamos que a solicitação de **adendo** à proposta intitulada **“Investigação do papel do envelhecimento na neuropatia induzida por quimioterápicos: 7-cloro-4-(fenilseleno) quinolina como alternativa terapêutica.”**, registrada com o nº CEEA 4506-2017, sob a responsabilidade de **xxXX** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **30 de abril de 2020**.

Solicitação: acréscimo de 68 ratos wistar machos (55 com 20 meses e 13 com 2 meses).

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, **Médico Veterinário**, em 06/05/2020, às 10:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0941208** e o código CRC **78738638**.

ANEXO B – Comprovante de submissão do manuscrito ao periódico *Experimental Gerontology*

Confirming submission to Experimental Gerontology

De: Experimental Gerontology (em@editorialmanager.com)

Para: ethelwilhelm@yahoo.com.br

Data: quinta-feira, 17 de fevereiro de 2022 11:29 BRT

This is an automated message.

AGING AND OXALIPATIN EXPOSURE INDUCE HEPATIC AND RENAL OXIDATIVE STRESS IN RATS:
BENEFICAL EFFECTS OF 7-COLORO-4-(PHENYLSELANYL)QUINOLINE

Dear Dr Wilhelm,

We have received the above referenced manuscript you submitted to Experimental Gerontology.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/exg/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Experimental Gerontology

More information and support

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub:
<https://www.elsevier.com/authors>

FAQ: How can I reset a forgotten password?
https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/

For further assistance, please visit our customer service site:

<https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

#AU_EXG#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/exg/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.