



Brazilian Journal of OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org



ARTIGO ORIGINAL

Efeito da genisteína na ototoxicidade induzida pela cisplatina e estresse oxidativo[☆]

Mehmet Tan ^{a,*}, Yüksel Toplu ^a, Emrah Varan ^a, Emrah Sapmaz ^b,
Onural Özhan ^c, Hakan Parlakpınar ^c e Alaadin Polat ^d

^a Inonu University, Medical Faculty, Department of Otorhinolaryngology, Malatya, Turquia

^b Gaziosmanpaşa University, Medical Faculty, Department of Otorhinolaryngology, Tokat, Turquia

^c Inonu University, Medical Faculty, Department of Medical Pharmacology, Malatya, Turquia

^d Inonu University, Medical Faculty, Physiology Department, Malatya, Turquia

Recebido em 25 de maio de 2021; aceito em 2 de julho de 2021

DESTAQUES

- A cisplatina é um agente antineoplásico usado em lesões malignas.
- A ototoxicidade da cisplatina é geralmente bilateral, irreversível e progressiva.
- A genisteína é um fitoestrógeno.
- A genisteína funciona como antioxidante e inibidor do ciclo celular ao inibir a topoisomerase do DNA.
- A genisteína apresentou efeitos positivos sobre a ototoxicidade com seu efeito antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE

Genisteína;
Ototoxicidade;
Cisplatina;
Estresse oxidativo

Resumo

Objetivo: A cisplatina é um agente antineoplásico usado em adultos e crianças para o tratamento de diversas lesões malignas. Pode causar ototoxicidade irreversível. A genisteína é um fitoestrógeno que funciona como antioxidante e inibidor do ciclo celular ao inibir as enzimas DNA topoisomerase e tirosina-quinase. O efeito protetor da genisteína na prevenção da ototoxicidade induzida pela cisplatina e os níveis de estresse oxidativo foram investigados.

Método: Trinta e dois ratos *Sprague Dawley* foram usados em 4 grupos (controle, cisplatina, cisplatina + genisteína, genisteína). As medidas das emissões otoacústicas por produto de distorção foram tomadas nos dias 1, 2 e 5 do protocolo do teste. Foram medidos os níveis séricos de malondialdeído, superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, estado antioxidante total, estado oxidante total e índice de estresse oxidativo.

DOI se refere ao artigo: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2021.07.001>

[☆] Como citar este artigo: Tan M, Toplu Y, Varan E, Sapmaz E, Özhan O, Parlakpınar H, et al. The effect of genistein on cisplatin induced ototoxicity and oxidative stress. Braz J Otorhinolaryngol. 2022;88:105–11.

* Autor para correspondência.

E-mail: mehmettan2003@yahoo.com (M. Tan).

A revisão por pares é da responsabilidade da Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial.

Resultados: A audição do grupo cisplatina + genisteína foi melhor do que a do grupo cisplatina. Enquanto os parâmetros malondialdeído, estado oxidante total e índice de estresse oxidativo diminuíram significativamente no grupo cisplatina + genisteína em comparação com o grupo cisplatina, o superóxido dismutase mostrou aumento significativamente ($p < 0,05$).

Conclusão: A genisteína apresentou efeitos positivos contra a ototoxicidade com seu efeito antioxidante.

Nível de evidência: Nível 3.

© 2021 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

A ototoxicidade se traduz pela degeneração celular e disfunção na cóclea e do órgão vestibular causada por vários medicamentos e produtos químicos. A cisplatina é um agente antineoplásico usado em adultos e crianças para o tratamento de várias lesões malignas, como tumores de cabeça e pescoço e sistema urogenital, câncer do sistema nervoso central, sistema respiratório e de esôfago.¹ Além da nefrotoxicidade e da ototoxicidade irreversível, a neurotoxicidade, a toxicidade do trato gastrointestinal e da medula óssea estão entre os efeitos colaterais dose-limitantes significativos da cisplatina.² É comumente usado em crianças, bem como em adultos.³ A ototoxicidade induzida por cisplatina (OIC) foi definida pela primeira vez em 1972.⁴ A ototoxicidade da cisplatina é geralmente bilateral, irreversível e progressiva e envolve altas frequências e tem início em dias ou semanas. A ototoxicidade é dose-dependente e cumulativa e, à medida que a dose aumenta, seus efeitos também aumentam.^{5,6} O processo pelo qual a OIC se desenvolve ainda não está claro. Os mecanismos mais significativos são um aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e uma redução no sistema de enzimas antioxidantes na cóclea.⁷ A interrupção desse equilíbrio dentro da célula pode resultar em danos às células cocleares e morte celular. Esse equilíbrio pode ser restaurado com o uso de agentes antioxidantes. Na literatura relevante, foi relatado que vários agentes são usados para restaurar esse equilíbrio e reduzir a formação de ERO.⁸

O composto genisteína é uma importante molécula nutracêutica encontrada em abundância na soja. A genisteína (GST) é um fitoestrógeno que pode apresentar uma ampla gama de efeitos farmacológicos, especialmente a inibição da tirosina quinase, em células animais. Ela é o foco de estudos epidemiológicos e vários estudos experimentais feitos com animais, devido ao seu potencial de efeitos benéficos à saúde com sua ingestão dietética diária. É relatado que mais de 3.600 estudos foram conduzidos para avaliar a eficácia biológica da genisteína nos últimos 10 anos. Entretanto, mais estudos devem ser feitos para avaliar os efeitos benéficos da genisteína com base nos dados atuais da literatura.⁹ A genisteína funciona como um antioxidante e inibidor do ciclo celular ao inibir as enzimas DNA topoisomerase e tirosina-quinase.¹⁰

Não há estudo na literatura que avalie o efeito da GST na OIC. Este estudo avaliou os efeitos ototóxicos com medidas de Emissão Otoacústica por Produto de Distorção (EOAPD).

O estudo também avaliou os níveis séricos do parâmetro de estresse oxidativo Malondialdeído (MDA), Estado Oxidante Total (EOT) e Índice de Estresse Oxidativo (IEO), bem como o conteúdo antioxidante Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPX), GSH reduzida e Estado Antioxidante Total (EAT). O principal objetivo deste estudo foi avaliar o efeito otoprotetor da GST na OIC em ratos; o segundo objetivo é comparar os parâmetros séricos oxidante e antioxidante no grupo GST, grupo CIS, grupo GST + CIS e grupo controle.

Método

A aprovação ética foi obtida do comitê de ética em pesquisa experimental com animais, com o número de protocolo 2019/A-45. O estudo usou 32 ratos fêmeas Sprague-Dawley. Ratos de três meses com peso corporal entre 200g e 300g e sem problemas auditivos nas medidas de emissão do dia 1 foram incluídos na pesquisa. Como as comparações entre os quatro grupos em termos de variáveis bioquímicas previram um tamanho de efeito de 0,7434, o tamanho mínimo da amostra por grupo foi calculado como 8 ($n = 8$) para um poder de teste de 90% e intervalo de confiança de 95%. Os animais experimentais foram mantidos em laboratório por 12 horas sob luz e 12 horas no escuro, sob condições reguladas automaticamente com temperatura ambiente de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de 45% a 50%. Os animais receberam dieta padrão com *pellets* e água potável fresca todos os dias.

Grupo 1 (controle) – Grupo ($n = 8$) que começou a receber DMSO – veículo solvente da genisteína: EtOH (2: 1) 300 μL por via intraperitoneal uma vez por dia durante cinco dias, uma hora antes da injeção IP de veículo solvente aquoso de cisplatina no dia 1.

Grupo 2 (CIS) – Grupo ($n = 8$) que começou a receber veículo solvente da genisteína: EtOH (2: 1) 300 μL por via intraperitoneal uma vez por dia, durante cinco dias, uma hora antes de receber 4 doses de 16 mg/kg por Injeção IP de CIS em intervalos de 6 horas no dia 1.

Grupo 3 (CIS-GST) – Grupo ($n = 8$) que começou a receber 10 mg/kg de genisteína por via intraperitoneal uma vez por dia durante cinco dias uma hora antes de 4 doses de 16 mg/kg por injeção IP de CIS em intervalos de 6 horas no dia 1.

Grupo 4 (GST) – Grupo ($n = 8$) que começou a receber 10 mg/kg de genisteína por via intraperitoneal uma vez por dia durante cinco dias, uma hora antes da injeção IP de veículo solvente aquoso de cisplatina no dia 1.

As medidas das EOAPD foram feitas com os ratos sob anestesia com cetamina/xilazina (100 mg.kg/10 mg.kg) no *Experimental Animals Production and Research Center* no 1º, 2º e 5º dias do protocolo experimental. As funções do PD-grama de entrada/saída foram registradas entre 0,9961 e 8,0003 Hz nas orelhas direitas dos ratos. As medidas foram feitas de acordo com os métodos que já usamos com sucesso em estudos publicados em 2014 e 2016. As medidas foram feitas com um dispositivo GSI Audera DPOAE (Grason Stadler, Madison, WI, EUA). O aparelho foi calibrado antes de cada medida com um sistema automatizado. As medidas foram feitas em uma cabine silenciosa, isolada dos sons circundantes. Os níveis de estímulo primário foram equalizados em 65 dB (L1=L2). Para obter as respostas mais fortes, duas frequências diferentes (f1 e f2) foram preparadas em f2: f1=1,22. As medidas de EOAPD foram feitas nos dias 0, 1 e 5 nas frequências de 996, 1.266, 1.582, 2.004, 2.519, 3.176, 3.996, 5.039, 6.351, 8.004 e 10.078 Hz. Objetivou-se avaliar o nível de estresse oxidativo e o efeito antioxidante que desempenham um papel na fisiopatologia da OIC. Aproximadamente 5 mL de sangue intracardiaco foram coletados após as medidas de emissão no 5º dia do experimento. Os níveis de MDA, SOD, CAT, GPX, EAT, EOT e IEO foram determinados espectrofotometricamente por PCR.

Medidas bioquímicas

A atividade da SOD foi calculada de acordo com o método descrito por Sun et al.¹¹ De acordo com esse método, a atividade da SOD é observada através da redução do tetrazólio nitroazul (NBT) produzido pelo efeito da xantina/xantina oxidase. 1 U de SOD é uma atividade enzimática que inibe a redução do NBT em 50% e os resultados são apresentados como U/mg de proteína.

A atividade da catalase foi calculada de acordo com o método de Aebi.¹² Esse método é baseado no princípio da medida da redução da absorbância no espectrofotômetro (UV) como resultado da dissolução de H₂O₂, que é uma substância química ativa, em água e oxigênio na presença da enzima CAT. Essa redução na absorbância é diretamente proporcional à atividade da enzima CAT. Na análise de espectrofotometria por UV, H₂O₂ fornece a absorbância máxima com um comprimento de onda de 240 nm.

Uma reação enzimática foi iniciada com a adição de H₂O₂ para determinar a atividade de GPX de acordo com o método sugerido por Paglia e Valentine.¹³ A proveta com GSH consistia em azida sódica, NADPH e glutatona redutase. Alterações na absorbância a 340 nm foram observadas com um espectrofotômetro. Os resultados são apresentados como U mg de proteína. Os valores de absorbância do conteúdo de GSH foram extrapolados com o método acima mencionado. O resultado foi derivado da curva padrão de glutatona e é apresentado como GSH (Umol/L).

O MDA, que é um produto da peroxidação lipídica, foi determinado de acordo com o método relatado por Uchiyama et al.¹⁴ O sobrenadante desse composto de cor rosa foi extraído na fase N-butanol pela reação de MDA com ácido tiobarbitúrico (TBA). Esse método é baseado na medida do sobrenadante formado em um espectrofotômetro a 535 e 520 nm. Os padrões em várias concentrações

foram preparados com 1,1,3,3 tetrametoxipropano, e os resultados foram avaliados com o gráfico padrão extraído deles e são apresentados como µmol/L.

Os níveis séricos de capacidade antioxidante total (TAC) foram medidos com o método automatizado. Os resultados são apresentados como mmol equivalente de Trolox/L / unidade.¹⁵

A medida do estado oxidante total (EOT) foi feita com um leitor de placas imunoestimulante com o *software* Bio-Tek HT Synergy Gen 5 e um conjunto de kit EOT (Rel Assay Diagnostics, Turquia).¹⁶ Os íons férricos em um ambiente ácido formam um complexo colorido com o xilenol laranja. A densidade da cor, que pode ser medida espectrofotometricamente, é proporcional à quantidade total de moléculas oxidantes na amostra. O experimento foi calibrado com peróxido de hidrogênio e os resultados são apresentados como equivalente de peróxido de hidrogênio em micromol por litro (equivalente de H₂O₂ µmol/L). Os níveis de IEO foram calculados como EOT/TAC e são apresentados como unidades arbitrárias.¹⁷

Análise estatística

Análises estatísticas de medidas otoacústicas

O *software* IBM SPSS Statistics versão 21.0 (IBM Co., Armonk, NY, EUA) foi usado para as análises estatísticas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi usado para determinar se os grupos apresentavam distribuição normal. Os grupos foram comparados com a análise de variância de Kruskal-Wallis e o teste U de Mann-Whitney, quando as medidas das EOAPD exibiram uma distribuição não normal. O teste de amostras pareadas de Wilcoxon foi usado na análise das variáveis dependentes.

Análises estatísticas bioquímicas

As análises estatísticas foram feitas com um programa de computador. A análise de variância (Anova) de uma via foi usada para comparar os grupos que apresentavam distribuição normal e foram expressos como média ± desvio-padrão, enquanto o teste de Tukey foi usado para os grupos que apresentavam variância homogênea nas comparações múltiplas. O teste H de Kruskal-Wallis foi usado para comparar os grupos que não apresentavam distribuição normal em termos de MDA e EOT, expressos como mediana (mínimo-máximo), enquanto o teste U de Mann-Whitney foi usado nas comparações múltiplas. O nível de significância estatística foi estabelecido em $p < 0,05$.

Resultados

Medidas otoacústicas

Os gráficos de antes e depois dos medicamentos em todos os grupos são apresentados nas *figuras 1–5*. Não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos GST, CIS-GST e controle quanto aos valores das EOAPD na análise feita no dia 1 após a administração dos medicamentos ($p > 0,05$). Entretanto, houve uma diferença significativa no grupo CIS ($p < 0,05$) (*fig. 1*). Nos testes auditivos feitos no dia 2, os grupos CIS e CIS-GST apresentaram perda auditiva significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) (*fig. 2*). Não houve

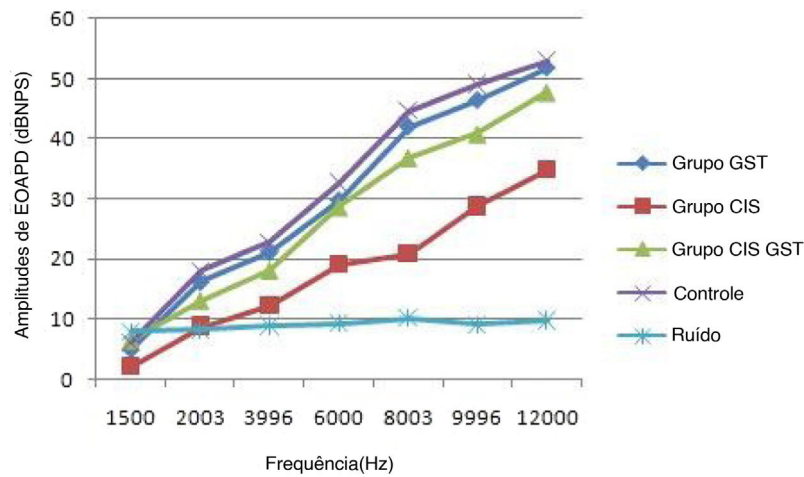


Figura 1 Amplitudes da emissão otoacústica por produto de distorção (EOAPD) medidas no dia 1. CIS, Cisplatina; GST, Genisteína; CIS + GST, Genisteína + Cisplatina; NPS, Nível de pressão sonora.

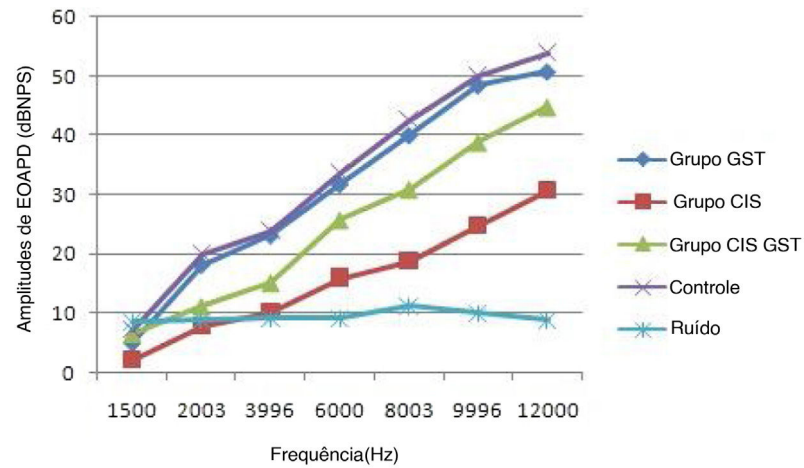


Figura 2 Amplitudes da Emissão Otoacústica por Produto de Distorção (EOAPD) medidas no dia 2. CIS, Cisplatina; GST, Genisteína; CIS + GST, Genisteína + Cisplatina; NPS, nível de pressão sonora.

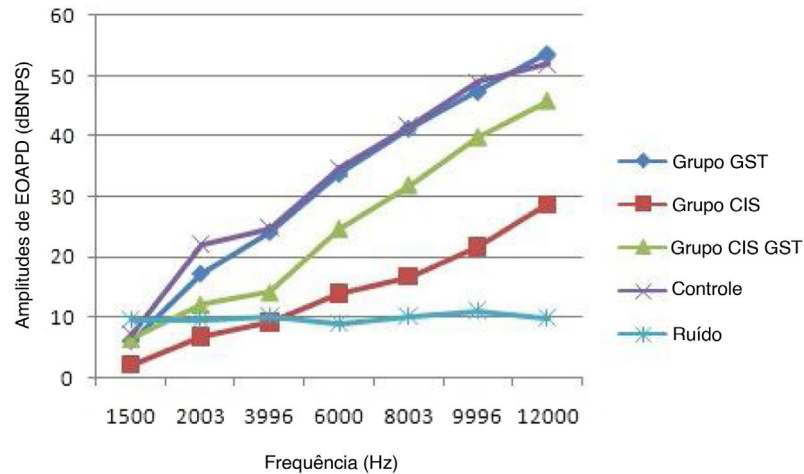


Figura 3 Amplitudes da Emissão Otoacústica por Produto de Distorção (EOAPD) medidas no dia 5. CIS, Cisplatina; GST, Genisteína; CIS + GST, Genisteína + Cisplatina; NPS, nível de pressão sonora.

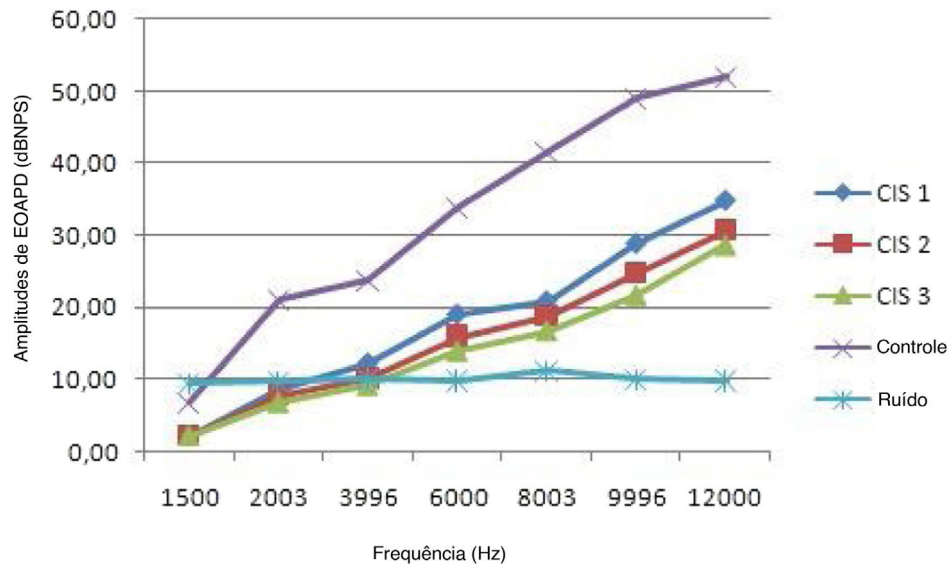


Figura 4 Comparação das medidas das Emissões Otoacústicas por Produto de Distorção (EOAPD) do grupo controle e do grupo CIS nos dias 1, 2 e 5.

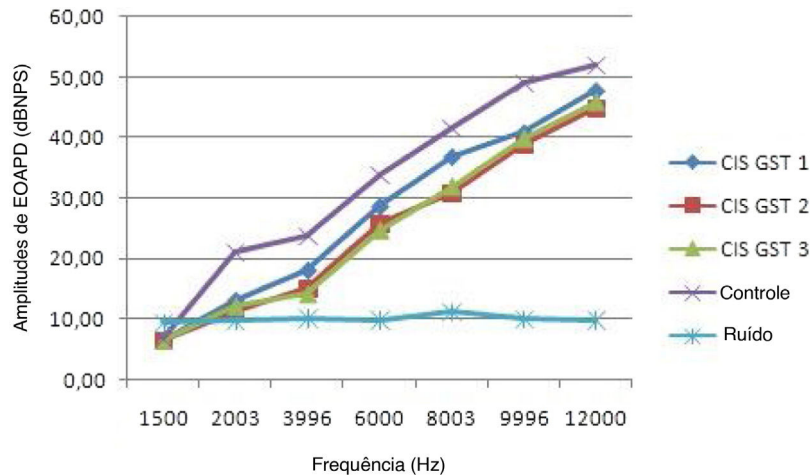


Figura 5 Comparação das medidas da Emissão Otoacústica por Produto de Distorção (EOAPD) nos grupos controle e grupo CIS-GST nos dias 1, 2 e 5.

diferença estatisticamente significativa entre os grupos GST e controle ($p > 0,05$). Na comparação do grupo CIS com o grupo CIS-GST, o grupo CIS-GST apresentou melhores níveis de audição. Houve diferença estatisticamente significativa entre os valores das EOAPD dos grupos, principalmente nas frequências superiores a 6000 Hz ($p < 0,05$). Na análise feita no dia 5, o grupo CIS apresentou níveis auditivos significativamente inferiores ($p < 0,05$) (fig. 3). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos CIS-GST e CIS a 1500, 2003 e 3996 Hz ($p > 0,05$). Os valores dos níveis auditivos dos ratos do grupo CIS diminuíram nos dias 2 e 5; entretanto, essa diminuição não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (fig. 4). Os valores dos níveis auditivos no grupo CIS-GST diminuíram nas medidas feitas nos dias 2 e 5 em comparação à medida feita no dia 1 ($p > 0,05$); entretanto, não houve diferença significativa entre as medidas feitas nos dias 2 e 5 ($p > 0,05$) (fig. 5).

Análises bioquímicas

A [tabela 1](#) mostra os escores dos parâmetros antioxidantes estudados no soro das amostras após a centrifugação das amostras de sangue colhidas no fim do experimento. Os níveis de EOT e IEO foram significativamente maiores no grupo CIS do que no grupo controle, enquanto a cisplatina e o suplemento de GST reduziram significativamente todos esses parâmetros de toxicidade. Além disso, os conteúdos séricos de SOD, CAT, GPX e TAC diminuíram significativamente no grupo CIS, enquanto o tratamento com GST aumentou significativamente todos os níveis dos parâmetros.

Discussão

Vários motivos já foram sugeridos para a patogênese da ototoxicidade induzida por medicamentos. Estudos anteriores

Tabela 1 Comparação de parâmetros de estresse oxidativo sérico e status antioxidante

Grupo	MDA μmol/L	SOD U/mL	CAT K/L	GPx U/mL	EOT μmol H ₂ O ₂ Eq/L	EAT μmol Trolox Eq/L	IEO Unidade arbitrária
Controle	3,23 (2,76–4,92)	0,61 ± 0,09	4,39 ± 1,62	4,68 ± 0,96	21,11 (13,53–30,47)	1,11 ± 0,20	20,70 ± 7,86
CIS	4,08 ^a (2,33–6,16)	0,36 ± 0,08 ^a	2,47 ± 0,76 ^a	2,25 ± 0,81 ^a	36,86 ^a (26,16–50,24)	0,75 ± 0,26 ^a	53,06 ± 14,65 ^a
CIS GST	3,40 ^b (2,50–4,50)	0,46 ± 0,10 ^b	2,68 ± 1,32 ^b	2,94 ± 0,90 ^b	31,96 ^b (18,28–37,90)	0,97 ± 0,18 ^b	33,14 ± 9,55 ^b
GST	1,57 ^a (1,15–2,50)	0,50 ± 0,09 ^a	3,54 ± 1,44 ^a	3,11 ± 1,03 ^a	23,34 ^a (19,77–39,84)	0,96 ± 0,16 ^a	27,64 ± 7,18 ^a

MDA, Níveis séricos do parâmetro de estresse oxidativo malondialdeído; EOT, Estado oxidante total; IEO, Índice de estresse oxidativo; SOD, Conteúdo antioxidante superóxido dismutase; CAT, Catalase; GPx, Glutathione peroxidase; EAT, Estado antioxidante total.

^a $p < 0,05$ versus grupo controle.

^b $p < 0,05$ versus grupo cisplatina.

verificaram que a cisplatina causou a formação de ERO, que iniciam a reação inflamatória e os eventos oxidativos ao se acumular na célula ou mesmo por estarem na linha de frente. Considerando os mecanismos moleculares da OIC, os pesquisadores observaram um aumento nos radicais reativos de oxigênio, redução no sistema antioxidante da orelha interna (glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase) e apoptose com a ativação do sistema caspase.^{18,19} A cisplatina ativa o NOX-3 (isoforma nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase-3). Essa enzima aumenta a produção do radical superóxido, aumenta a produção de peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é catalisado pelo ferro e os radicais livres formados reagem com os ácidos graxos na membrana celular, causam danos e morte celular.²⁰ Estudos *in vitro* sobre OIC mostraram que as células ciliadas externas na parte basal são afetadas primeiro e, em seguida, a OIC prossegue na direção apical. Em seguida, ela afeta as células ciliadas internas, o gânglio espiral e a estria vascular. A ototoxicidade da cisplatina é geralmente bilateral, irreversível e progressiva e envolve altas frequências e seu início ocorre em dias ou semanas. A perda auditiva tende a progredir com o tempo.^{21–23} É observada em 25% a 50% dos pacientes que recebem tratamento com cisplatina para zumbido e continua por um ano em 38% deles.²⁴

O presente estudo usou EOAPD não invasivas e objetivas na determinação da perda auditiva coclear. As EOAPD revelam o efeito da cisplatina na audição antes da ocorrência de alterações na audiometria de tons puros. A característica mais significativa nas EOAPD é o diagnóstico dos estágios iniciais do processamento do som e avaliação da atividade biomecânica das células ciliadas externas.^{25,26} Este estudo encontrou uma diminuição estatisticamente significativa em todas as frequências no grupo da cisplatina com as EOAPD. Essa diminuição significativa no grupo da cisplatina foi devido à OIC. Na comparação dos testes auditivos feitos no dia 2 do grupo CIS com o grupo CIS-GST, o grupo CIS-GST apresentou melhores níveis de audição. Houve diferenças estatisticamente significantes entre os valores das EOAPD, principalmente nas frequências superiores a 6000 Hz ($p < 0,05$). Na avaliação feita no dia 5, o grupo CIS apresentou níveis auditivos significativamente inferiores ($p < 0,05$). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos CIS-GST e CIS a 1500, 2003 e 3996 Hz ($p > 0,05$).

Estudos mostraram que a genisteína, um fitoquímico da soja, é um antioxidante, um modulador inflamatório e um inibidor de alterações epigenéticas em

modelos pré-clínicos.²⁷ Pesquisas também foram feitas sobre as atividades repelentes de radicais livres (antioxidante), antitrombótica, anti-hipertensiva, antialérgica, anti-inflamatória, antiapoptótica e, recentemente, anticancerígena dos flavonoides. Vários estudos examinaram os mecanismos do efeito antioxidante dos flavonoides e relataram diferentes atividades. Os flavonoides podem ligar-se a metais como nos complexos metal-flavonoides em várias proporções. As propriedades antioxidantes de alguns flavonoides podem surgir com a quelação de metais, especialmente ferro e cobre. Os movimentos dos íons metálicos são cofatores cruciais na reação de Fenton. Portanto, sua quelação com flavonoides torna os metais inutilizáveis para esse tipo de reação.²⁸ Os flavonoides são considerados indutores da inibição da xantina oxidase. A inibição da xantina oxidase pode ajudar a prevenir a formação de superóxido.²⁹ O estudo também avaliou os resultados auditivos atuais e os parâmetros bioquímicos séricos, inclusive novos conteúdos oxidantes e antioxidantes, como EOT, TAC e IEO medidos no sangue. SOD, CAT, GPx e GSH causaram uma diminuição no nível das enzimas antioxidantes do EAT e seus conteúdos aumentaram o nível de MDA, EOT e IEO. A GST causou uma mudança no estado molecular que produziu todo esse efeito ototóxico (tabela 1). A causa do dano coclear e da ototoxicidade pode ter aumentado os parâmetros da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo e reduzido a atividade dos sistemas antioxidantes. Além disso, mais estudos devem ser feitos para avaliar o papel da GST em diferentes dosagens na prevenção e no tratamento da OIC.

Conclusão

Nossos resultados mostram pela primeira vez na literatura disponível que a genisteína pode proteger contra a ototoxicidade, aumentar os níveis de enzimas antioxidantes e diminuir os níveis dos parâmetros oxidantes. Sugerimos que a genisteína pode ser uma opção viável contra a ototoxicidade induzida pela cisplatina.

Financiamento

Research Fund of the Inonu University, Malatya, Turquia.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today*. 2005;10:1313–21.
- Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*. 2007;33:9–23.
- Clemens E, van den Heuvel-Eibrink MM, Mulder RL, Kremer LCM, Hudson MM, Skinner R, et al. Recommendations for ototoxicity surveillance for childhood, adolescent, and young adult cancer survivors: a report from the International Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group in collaboration with the PanCare Consortium. *Lancet Oncol*. 2019;20:e29–41.
- Rossof AH, Slayton RE, Perlia CP. Preliminary clinical experience with cis-diamminedichloroplatinum (II) (NSC 119875. CACP). *Cancer*. 1972;30:1451–6.
- Reavis KM, McMillan G, Austin D, Gallun F, Fausti SA, Gordon JS, et al. Distortion-product otoacoustic emission test performance for ototoxicity monitoring. *Ear Hear*. 2011;32:61–74.
- Dutta A, Venkatesh MD, Kashyap RC. Study of the effects of chemotherapy on auditory function. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;57:226–8.
- Kelles M, Tan M, Kalcioglu MT, Toplu Y, Bulam N. The Protective Effect of Chrysin Against Cisplatin Induced Ototoxicity in Rats. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;66:369–74.
- Campbell KC, Meech RP, Rybak LP, Hughes LF. The effect of D-methionine on cochlear oxidative state with and without cisplatin administration: mechanisms of otoprotection. *J Am Acad Audiol*. 2003;14:144–56.
- Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry*. 2002;60:205–11.
- Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem*. 1987;262:5592–5.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 1988;34:497–500.
- Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer U, editor. *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press. 1974:673–7.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70:158–69.
- Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86:271–8.
- Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004;37:277–85.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38:1103–11.
- Aycicek A, Erel O, Kocyigit A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. *Pediatr Int*. 2005;47:635–9.
- Gonçalves MS, Silveira AF, Teixeira AR, Hyppolito MA. Mechanisms of cisplatin ototoxicity: theoretical review. *J Laryngol Otol*. 2013;127:536–41.
- Chirtes F, Albu S. Prevention and restoration of hearing loss associated with the use of cisplatin. *Biomed Res Int*. 2014;2014:925485.
- Rybak LP. Mechanisms of cisplatin ototoxicity and progress in otoprotection. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;15:364–9.
- Reavis KM, McMillan G, Austin D, Gallun F, Fausti SA, Gordon JS, et al. Distortion-product otoacoustic emission test performance for ototoxicity monitoring. *Ear Hear*. 2011;32:61–74.
- Sakamoto M, Kaga K, Kamio T. Extended high-frequency ototoxicity induced by the first administration of cisplatin. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000;122:828–33.
- Reavis KM, McMillan G, Austin D, Gallun F, Fausti SA, Gordon JS, et al. Platinum-induced ototoxicity in children: a consensus review on mechanisms, predisposition, and protection, including a new International Society of Pediatric Oncology Boston ototoxicity scale. *J Clin Oncol*. 2012;30:2408–17.
- Vermorken JB, Kapteijn TS, Hart AA, Pinedo HM. Ototoxicity of cis-diamminedichloroplatinum (II): influence of dose, schedule and mode of administration. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1983;19:53–8.
- Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. *J Pineal Res*. 2000;28:73–80.
- Ozturan O, Jerger J, Lew H, Lynch GR. Monitoring of cisplatin ototoxicity by distortion-product otoacoustic emissions. *Auris Nasus Larynx*. 1996;23:147–51.
- Mukund V, Mukund D, Sharma V, Mannarapu M, Alam A. Genistein: Its role in metabolic diseases and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017;119:13–22.
- Cheng IF, Breen K. On the Ability of Four Flavonoids Baicalein, Luteolin Naringenin and Quercetin, to Suppress the Fenton Reaction of the Iron-ATP Complex. *Biometals*. 2000 Mar;13:77–83.
- Ashraf M, ve Samra ZQ. Subcellular Distribution of Xanthine Oxidase During Cardiac Ischemia and Reperfusion: An Immunocytochemical Study. *J Submicrosc Cytol Pathol*. 1993;25:193–201.