

Niveles séricos de magnesio en perros sanos sometidos a la administración de cisplatino con terapia de líquidos

Serum magnesium levels in healthy dogs submitted to the administration of cisplatin with fluid therapy

Carlos Alfredo Calpa Oliva* Carlos Roberto Daleck**
João Humberto Teotônio de Castro** Andriago Barboza de Nardi**

Abstract

Cisplatin is an antineoplastic drug that is used to treat carcinomas and osteosarcomas in dogs. However, it can cause kidney damage which in turn leads to the loss of electrolytes. Concentration of magnesium was evaluated in the blood serum of eight dogs that had undergone therapy with cisplatin. The dogs were divided into two groups. Group 1 was supplied with cisplatin (70 mg/m², iv) and to prevent nephrotoxicity, saline solution at 0.9% was administered (25 ml/kg/hour, iv in three hours). The animals in Group 2 were not supplied with cisplatin. There was no significant difference ($P < 0.05$) between the two groups and the results obtained indicated that the protocol used for Group 1 did not cause changes in the serum concentrations of magnesium. Therefore, it can be concluded that the administration of cisplatin does not cause variations if it is combined with the fluid therapy.

Key words: CISPLATIN, FLUID THERAPY, CHEMOTHERAPY, MAGNESIUM, ELECTROLYTES..

Resumen

El cisplatino es un agente antineoplásico útil para el tratamiento de carcinomas y osteosarcomas en perros; sin embargo, puede causar daño renal que resulta con pérdida de electrolitos. Se evaluó la concentración de magnesio en suero sanguíneo de ocho caninos sometidos a terapia con cisplatino, distribuidos en dos grupos. A los perros del Grupo 1 se les administró cisplatino (70 mg/m², iv), para prevenir la nefrotoxicidad recibieron solución salina al 0.9% (25 ml/kg/h, iv durante tres horas). Los animales del Grupo 2 no recibieron cisplatino. No hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) entre grupos, los resultados obtenidos indican que el protocolo utilizado para el Grupo 1 no ocasionó cambios en la concentración sérica de magnesio. Por tanto, se concluye que la administración de cisplatino no ocasiona estos cambios si se aplica juntamente con terapia de líquidos.

Palabras clave: CISPLATINO, TERAPIA DE LÍQUIDOS, QUIMIOTERAPIA, MAGNESIO, ELECTRÓLITOS.

Recibido el 17 de noviembre de 2009 y aceptado el 11 de octubre de 2010.

*Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño, Ciudad Universitaria Torobajo, Pasto, Nariño, Colombia.

**Servicio de Oncología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Estatal Paulista, Vía Profr. Paulo Donato Castellane, CEP 14884-900, Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil.

Correspondencia: Carlos Alfredo Calpa Oliva, Tel.: (572) 7 31 42 98, 7 31 33 70, Correo electrónico: calpaa@yahoo.es

Introduction

Therapeutic procedures with chemotherapy alone or combined are established as treatment for different types of malignant neoplasm, to improve dogs life quality and prolong survival time.

Cisplatin is an antineoplastic agent that has a great therapeutic value in a variety of animal and human tumors, particularly in the treatment of tumors of the head, neck, testis, ovary and malignant melanomas. However, its use has been limited due to side effects;¹ as nephrotoxicity, causing injury to renal epithelial cells leading to acute or chronic renal failure, characterized by renal electrolyte loss.² Today side effects caused by the use of chemotherapy represents the main challenge for researchers.^{3,4}

The purpose of this experiment was to evaluate the magnesium serum concentration in dogs during chemotherapy with cisplatin.

Cisplatin

Cisplatin (diaminedichloroplatinum II) was first synthesized in 1845, determined as a heavy metal complex with two chlorine atoms and two molecules of ammonia in the position *cis*.⁵ The way that cisplatin operates is by forming a platinum complex inside of a cell which binds to DNA and cross-links DNA causing ionization chlorine atoms and inactivation.⁶ It accumulates in the kidneys, liver and gastrointestinal tract and is excreted by the kidneys.⁷ Cisplatin is considered the main representative of the platinum compounds with a wide antineoplastic activity.¹

In less than an hour, cisplatin is distributed by the liver, intestine and kidney, 10% is found in plasma and 50% of the administered dose is excreted in the urine within 24 hours, 85% is eliminated in 48 hours.⁸ The plasmatic concentration presents an initial biphasic plasma development in 25-49 minutes; taking account that post distribution plasma shelf-life is 58 to 73 hours (plasma elimination shelf-life).⁹ Three to four percent of the plasmatic content goes into the cerebrospinal fluid.¹⁰

The main toxic effects caused by cisplatin are myelosuppression, alopecia, ototoxicity, gastrointestinal toxicity, neurotoxicity and nephrotoxicity. Small-sized dogs are more susceptible to toxicity than large dogs.^{3,11} Other side effects of cisplatin are hyponatremia, hypomagnesaemia, hypocalcaemia, hypokalemia and hypophosphoremia.⁹

It has been demonstrated that the cytotoxicity of cisplatin is due to the combination of different side events, including cell membrane peroxidation, mitochondrial dysfunction, inhibition of protein synthesis and DNA damage. The presence of necrosis

Introducción

La quimioterapia sola o combinada con otros procedimientos terapéuticos se constituyó como tratamiento de elección para diferentes tipos de neoplasia maligna, para mejorar la calidad de vida y prolongar el tiempo de sobrevivencia.

El cisplatino es uno de los agentes antineoplásicos que presenta mayor potencial terapéutico en gran variedad de neoplasias humanas y de animales, sobre todo en tratamientos de tumores de cabeza, cuello, testículo, ovario y melanomas malignos. Sin embargo, su uso se ha limitado debido a sus efectos colaterales;¹ el principal de éstos es la nefrotoxicidad, que ocasiona lesión en las células epiteliales renales y deriva en insuficiencia renal aguda o crónica, caracterizada por la pérdida renal de electrolitos.² Actualmente los efectos colaterales provocados por el uso de quimioterapéuticos representan el principal desafío de los investigadores.^{3,4}

El propósito de este experimento fue evaluar la concentración sérica del magnesio en perros durante la quimioterapia con cisplatino.

Cisplatino

El cisplatino (diaminodicloroplatino II) se sintetizó por primera vez en 1845, se determinó como complejo de metal pesado, con dos átomos de cloro y dos moléculas de amonio en la posición *cis*.⁵ El platino se intercala entre las cintas de ADN, causando ionización de átomos de cloro e inactivación de aquél.⁶ Se acumula en los riñones, hígado y tracto gastrointestinal, y es excretado por los riñones.⁷ El cisplatino es considerado como el principal representante de los compuestos de platino, los cuales son conocidos por su amplia actividad antineoplásica.¹

En menos de una hora, el cisplatino se distribuye por hígado, intestino y riñones, 10% se encuentra en el plasma y 50% de la dosis administrada es excretada por la orina en 24 horas, 85% es eliminada en 48 horas.⁸ La concentración plasmática presenta evolución bifásica inicial de 25-49 minutos, si se tiene en cuenta que la vida media plasmática posdistribución es de 58 a 73 horas (vida media plasmática de eliminación).⁹ La cantidad que pasa al líquido cefalorraquídeo es pequeña, apenas de 3-4% del contenido plasmático.¹⁰

Los principales efectos tóxicos causados por el cisplatino son mielosupresión, alopecia, ototoxicidad, toxicidad gastrointestinal, neurotoxicidad y nefrotoxicidad. Los perros de talla pequeña son más susceptibles a la toxicidad que los caninos grandes.^{3,11} Otros efectos colaterales que ocurren cuando el paciente recibe cisplatino son hiponatremia, hipomagnesemia, hipocalcemia, hipofosforemia e hipocaliemia.⁹

in different structures of the kidney induced by cisplatin is clearly demonstrated in histopathological studies of renal tissue from human patients with nephrotoxicity.²

Nephrotoxicity is manifested by cytotoxic damage in the nephron, especially in the medullary portion of the proximal tubules and ascending Henle's loop. Cisplatin treatment often causes disturbances in tubular reabsorption, causing changes in the concentration of electrolytes.¹²

The administration of a single intraperitoneal dose of cisplatin at a dose of 6 mg/kg causes necrosis of the proximal and distal tubules in mouse kidneys, with the highest peak of lesions on the seventh day of treatment. Tubular damage is mainly located in the cortical region, where the concentration of platinum was higher. Prolonged treatments with cisplatin (1 mg/kg) during eleven weeks cause tubular dilation, interstitial fibrosis and other irreversible kidney damages.¹

Martins *et al.*¹³ evaluated renal function in healthy dogs by administering cisplatin at a dose of 60 mg/m², with 21-day intervals for three sessions, giving fluid therapy with 0.9% saline solution at doses of 25 ml/kg/hour intravenously (iv), in two hours before and after application of cisplatin, with or without administration of furosemide in doses of 2 mg/kg iv, 20 minutes before cisplatin administration. Gradual increase in serum level concentrations of creatinine and decreased in the clarification of creatinine was observed only in animals subjected to the protocol without furosemide, suggesting a possible renal protection produced by the drug in dogs treated with cisplatin.

According to Ogilvie,¹¹ fluid therapy for four hours is relatively secure. The saline solution was administered at doses of 25 ml/kg/h iv for three hours, then cisplatin was applied in doses of 70 mg/m² iv, for 20 minutes, followed by administration of saline solution 25 ml/kg/h, for an additional hour. This protocol was repeated every three weeks.

In humans, a high percentage of patients had severe renal imbalance, uremia, hypomagnesaemia, hypocalcaemia and diminished glomerular filtration rate after treatment with high doses of cisplatin giving saline hydration and administration of diuretics.¹⁴

Recently, magnesium has emerged as an important ion. It is a metabolic cofactor in many metabolic functions, for example, in the sodium-potassium pump (Na⁺, K⁺, ATPase). The consequence of inadequate magnesium is the loss of potassium, often associated with hypokalemia in many sick or dehydrated animals.¹⁵

In dogs, normal serum magnesium concentration varies between 1.8 and 2.5 mmol/L.¹⁶ Magnesium is a predominantly intracellular cation, the majority of this ion is stored in bones and muscles, while 1% of the

Se ha demostrado que la citotoxicidad del cisplatino se debe a la combinación de diferentes eventos adversos, incluyendo la peroxidación de la membrana celular, disfunción mitocondrial, inhibición de la síntesis proteínica y lesión del ADN. La presencia de necrosis en diferentes estructuras del riñón se muestra claramente en estudios histopatológicos de tejido renal de pacientes humanos con nefrotoxicidad inducida por el cisplatino.²

La nefrotoxicidad se manifiesta con daño citotóxico en la nefrona, especialmente en la porción medular, en los túbulos proximales y asa ascendente de Henle. El tratamiento con cisplatino frecuentemente provoca trastornos en la reabsorción tubular, provocando alteraciones en la concentración de electrolitos.¹²

La administración de una sola dosis intraperitoneal de cisplatino en dosis de 6 mg/kg provoca necrosis de los túbulos proximales y distales en los riñones de ratones, con el pico máximo de lesiones a los siete días del tratamiento. Los daños tubulares se localizan, principalmente, en la región corticomedular, donde la concentración de platino en el riñón era más alta. Tratamientos prolongados con cisplatino (1 mg/kg) durante once semanas producen dilatación tubular, fibrosis intersticial y otros daños renales irreversibles.¹

Martins *et al.*¹³ evaluaron la función renal de perros clínicamente sanos administrando cisplatino a dosis de 60 mg/m², con intervalos de 21 días, por tres aplicaciones, realizando terapia de líquidos dos horas antes y una después de la aplicación de cisplatino con solución salina al 0.9% en dosis de 25 ml/kg/h vía intravenosa (iv), con o sin administración de furosemda en dosis de 2 mg/kg iv, 20 minutos antes de la administración de cisplatino. Se observó aumento gradual en las concentraciones séricas de creatinina y disminución en el aclaramiento de creatinina solamente en los animales sometidos al protocolo sin furosemda, sugiriendo así una posible protección renal determinada por el fármaco en perros tratados con cisplatino.

Según Ogilvie G. K.,¹¹ la terapia de líquidos durante cuatro horas es de relativa seguridad. La solución salina se administró en dosis de 25 ml/kg/h iv, durante tres horas, posteriormente se aplicó cisplatino en dosis de 70 mg/m² iv, durante 20 minutos, seguida por administración de solución salina con 25 ml/kg/h, por una hora adicional. Este protocolo se repitió cada tres semanas.

En humanos, un alto porcentaje de pacientes presentó desequilibrio renal severo, uremia, hipomagnesemia, hipocalcemia y tasa de filtración glomerular disminuida, después del tratamiento con altas dosis de cisplatino, realizando hidratación salina y administración de diuréticos.¹⁴

El magnesio surgió recientemente como un ion

total amount in the extracellular space.¹⁷ Magnesium distribution between extra and intracellular compartments is linked to acid-base balance and regulation of calcium and aldosterone. The primary hypomagnesaemia is rare in domestic species. In most cases is associated with renal failure.¹⁸

The incidence and severity of hypomagnesaemia caused by cisplatin depends on the dose and number of cycles. Hypomagnesaemia is present in humans receiving cumulative doses of cisplatin (400 mg/m²), usually after the second or third cycle of chemotherapy. After the second cycle of treatment with cisplatin, the concentration of serum magnesium can drop to dangerous levels.¹⁹

The administration of cisplatin may lead to a reduction of magnesium concentration, which persists for months or years after treatment. Rarely causes anorexia, nausea, weakness, apathy, muscular fibrillation, tremors, ataxia, tetany, hyperreflexia and occasionally hyporeflexia, depression and irritability.²⁰

Cisplatin may produce hypomagnesaemia by direct injury to mechanisms of magnesium reabsorption in the ascending loop of Henle and distal convoluted tubule. Hypomagnesaemia affects up to 90% of patients when there is no remedial action prior to its application.²¹

Magnesium concentrations in serum, erythrocytes and renal excretion of magnesium are researched in patients with lung cancer, after a dose of cisplatin. Such studies confirm that cisplatin induces the decrease of plasma magnesium and erythrocytes, taking into account that the decrease in plasma occurs progressively and slowly in erythrocytes.²²

Mice treated with cisplatin and fed with diets low in magnesium will develop acute renal failure, confirmed by hypercreatininaemia and hyperuraemia. These results suggest that there is a reduction in 30% of glomerular filtration; therefore, the diet with low magnesium concentration has an additive effect on the occurrence of hypomagnesaemia induced by cisplatin. In this study, mice were treated with 2.5 mg of cisplatin per kilogram weight.¹²

Several studies have shown that, both in humans and other animal species, cisplatin at different doses, mainly causes nephrotoxicity, which affects serum electrolytes. However, magnesium concentrations in serum are not known in dogs treated with cisplatin receiving at the same time fluid therapy to protect the kidney; in this sense, the objective of this study was to determine whether cisplatin affects serum magnesium concentration associated with fluid therapy in healthy dogs.

importante, pero raramente se ha considerado. Se trata de un cofactor metabólico en muchas funciones metabólicas; por ejemplo, en la bomba de sodio-potasio (Na⁺, K⁺, ATPasa). La consecuencia de la insuficiencia de magnesio es la pérdida de potasio, frecuentemente se encuentra asociada con hipocaliemia en muchos animales enfermos o deshidratados.¹⁵

En perros, la concentración plasmática normal de magnesio varía entre 1.8 y 2.5 mmol/l.¹⁶ El magnesio es un catión predominantemente intracelular, la mayor parte de este ion se almacena en los huesos y músculos, mientras que 1% de la cantidad total se encuentra en el espacio extracelular.¹⁷ La distribución de magnesio entre los compartimientos extra e intracelular está ligada al equilibrio ácido-base y regulación de calcio y aldosterona. La hipomagnesemia primaria es rara en las especies domésticas. En la mayoría de los casos está asociada con insuficiencia renal.¹⁸

La incidencia y severidad de la hipomagnesemia causadas por el cisplatino dependen de la dosis y número de ciclos. En humanos que reciben dosis acumulativas de cisplatino (400 mg/m²) se presenta hipomagnesemia, generalmente después del segundo o tercer ciclo de quimioterapia. Después del segundo ciclo del tratamiento con cisplatino, la concentración del magnesio en el suero puede bajar hasta concentraciones potencialmente peligrosas.¹⁹

La administración de cisplatino puede propiciar reducción de la concentración de magnesio, que persiste durante meses o años después del tratamiento. Rara vez causa anorexia, náusea, debilidad, apatía, fibrilación muscular, temores, ataxia, tetania, hiperreflexia y, ocasionalmente, hiporreflexia, depresión e irritabilidad.²⁰

Es posible que el cisplatino induzca hipomagnesemia por lesión directa de los mecanismos de reabsorción de magnesio en el asa ascendente de Henle y en el túbulo contorneado distal. La hipomagnesemia afecta hasta 90% de los pacientes cuando no se aplican las medidas correctivas previas a su aplicación.²¹

Las concentraciones de magnesio en el suero, eritrocitos y la excreción renal de magnesio son investigadas en pacientes con cáncer de pulmón, después de una dosis de cisplatino. Tales investigaciones confirman que este último induce la disminución de magnesio en el plasma y en los eritrocitos, tomando en cuenta que la disminución en el plasma ocurre progresivamente y en los eritrocitos de forma lenta.²²

Ratones tratados con cisplatino y alimentados con dietas bajas en magnesio presentan falla renal aguda, confirmada por la hiperuremia e hipercreatininemia. Estos resultados sugieren que la filtración glomerular está reducida en, por lo menos, 30% y, por tanto, la dieta con baja concentración de magnesio es un efecto aditivo en la ocurrencia de hipomagnesemia inducida

Material and methods

Animals

Eight clinically healthy male dogs, without a definite breed, with an average age of three years and weighing between 10 and 15 kg, belonging to the Hospital Veterinario Governador Laudo Natel of the Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias of the Universidad Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, Brazil were used.

The animals selected were examined clinically and blood samples were taken for hemogram, biochemical tests and urine was collected for urinalysis. They were vaccinated,* wormed,** bathed and housed in individual cages with adequate conditions of hygiene in the hospital. The animals were fed with a commercial pellet, suitable for the species, and water *ad libitum*. In order to adapt to the environment and management, the dogs were placed for three weeks before starting the experiment.

Experimental groups

The dogs were randomly assigned to two groups, each consisting of four animals. Group 1 underwent fluid therapy with saline solution 0.9%*** at doses of 25 ml/kg/h iv, two hours before the application of cisplatin, using an infusion pump.† Subsequently, a dose of 70 mg/m² of cisplatin, in 100 ml of saline solution 0.9%, which was administered by infusion for 20 minutes, followed by one more hour of fluid therapy, in doses of 25 ml/kg/h. Cisplatin was applied every three weeks, in a total of four sessions. Group 2 fluid therapy was similar to Group 1, but without application of cisplatin.

In addition to the protocols aforementioned, all animals (Groups 1 and 2) were medicated with metoclopramide,* in order to reduce emesis, and furosemide,** to decrease the time of fluid administration.

Metoclopramide was administered in doses of 2 mg/kg iv, 15 minutes before cisplatin administration and then every eight hours within 24 hours. After this period, the application was every 12 hours for two days. Furosemide was administered intravenously in doses of 2 mg/kg, five minutes after the administration of metoclopramide.

Clinical Evaluation

During chemotherapy, and along the 90-day study, animals were assessed clinically in terms of rectal temperature,*** heart and respiratory rate, overall physical condition, gastrointestinal signs, urine output,

por el cisplatino. En este trabajo, los ratones fueron tratados con 2.5 mg de cisplatino por kilogramo de peso.¹²

Diversos estudios señalan que, tanto en humanos como en otras especies animales, el cisplatino, a distintas dosis, produce principalmente nefrotoxicidad, que afecta la concentración sérica de los electrólitos. Sin embargo, aún no se conocen las concentraciones séricas del magnesio en perros tratados con cisplatino que al mismo tiempo reciben fluidoterapia para proteger el riñón; en este sentido, el objetivo del presente estudio consistió en determinar si la administración de cisplatino incide en la concentración sérica del magnesio asociada con terapia de líquidos en perros sanos.

Material y métodos

Animales

Se utilizaron ocho perros clínicamente sanos, machos, sin raza definida, con edad media de tres años y pesos entre 10 y 15 kg, pertenecientes al Hospital Veterinario Governador Laudo Natel, de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias en la Universidad Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, en Brasil.

Una vez seleccionados, los animales se sometieron a examen físico y toma de muestras de sangre para la realización de hemograma, pruebas bioquímicas y recolección de orina para urianálisis. Enseguida fueron vacunados,* desparasitados,** bañados y alojados en jaulas individuales con condiciones adecuadas de higiene, en el hospital mencionado. Los animales se alimentaron con un único tipo de concentrado comercial, adecuado a la especie, y agua a voluntad. Con el fin de que se adaptaran al ambiente y manejo, los perros fueron familiarizados en el sitio de estadía y experimento durante tres semanas antes de iniciarlo.

Grupos experimentales

Los perros se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos, constituidos cada uno por cuatro animales; el Grupo 1 se sometió a terapia de líquidos con solución salina*** al 0.9%, en dosis de 25 ml/kg/h iv, dos horas antes de la aplicación de cisplatino, utilizando bomba de infusión.† Posteriormente, se preparó una dosis de 70 mg/m² de cisplatino, en 100 ml de solución salina al 0.9%, la cual se administró por infusión durante

*Rai-Vac® I, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, São Paulo, Brasil; DURAMUNE DA2PP + CvK/LCI®, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, São Paulo, Brasil.

**Bay-o-Pet Drontal® Plus, Bayer S. A., Saúde Animal, São Paulo, Brasil.

***Fisiológico (Cloreto de Na a 0.9%), Indústria Farmacêutica, S. A., Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

†Tigibomb, Klemmen Importações Ltda., São Paulo, Brasil.

skin lesions, prostration, dyspnea, and alopecia. The animals were weighed before each session of chemotherapy.

Collection and preparation of biological samples

The collection of blood samples was carried out before each session of chemotherapy (days 0, 21, 42, 63, 84), processed and analyzed immediately after collection.

For the biochemical test, 5 ml of blood samples were obtained, with no anticoagulant; sera samples, obtained after coagulation and clot retraction, were centrifuged† at 800 *g* for five minutes and kept under refrigeration, for three hours, until analyzed.

Laboratory analysis

In order to determine the serum concentration of magnesium, Labtest method was used, by means of commercial packages Labtest.†

Statistical analysis

With the aim to establish whether there was difference in serum magnesium levels between dogs in Group 1 (cisplatin) and Group 2 (control), data was subjected to analysis of variance. To assess the effects of cisplatin on magnesium, the data was analyzed in a split plot scheme, with the plots of the experimental groups (factor among animals), and subplots chemotherapy sessions (factor within animals). The data were subjected to analysis of variance, and as finding significant difference, means were compared by Tukey's test considering the significance level of 5%.²³

Results

Clinical Manifestations

After chemotherapy and fluid therapy, two animals of Group 1 that received cisplatin had episodes of vomiting and diarrhea within 24 hours, but no clinical signs of dehydration. Animals with chemotherapy showed a reduction in food intake the day after chemotherapy cycles, and the animals in Group 2 maintained normal food intake throughout the experimental period. In both groups there were no toxicity-related gastrointestinal disorders, urinary, skin lesions, prostration, dyspnea, or alopecia. In regard to the weight, there was slight decrease (average of 1.1 kg) in the group treated with cisplatin.

During the chemotherapy sessions and fluid therapy all animals remained calm, no clinical signs that might compromise general condition were observed.

20 minutos, seguida por una hora más de terapia de líquidos, en dosis de 25 ml/kg/h. El cisplatino se aplicó cada tres semanas, en un total de cuatro sesiones. El Grupo 2 tuvo terapia de líquidos semejante al Grupo 1, pero sin aplicación de cisplatino.

Además de los protocolos aplicados anteriormente, todos los animales (Grupos 1 y 2) fueron medicados con metoclopramida,* con el fin de disminuir la emesis, y furosemida,** para disminuir el tiempo de administración de líquidos.

La metoclopramida fue aplicada en dosis de 2 mg/kg iv, 15 minutos antes de la administración de cisplatino y, posteriormente, cada ocho horas en las primeras 24 horas. Tras este periodo, la aplicación fue cada 12 horas durante dos días. La furosemida se administró por vía intravenosa en dosis de 2 mg/kg, cinco minutos después de la administración de metoclopramida.

Evaluación clínica

Durante la quimioterapia, y a lo largo de los 90 días de estudio, los animales fueron evaluados clínicamente en cuanto a temperatura rectal, frecuencias cardíaca y respiratoria, estado general, signos gastrointestinales, producción de orina, alteraciones cutáneas, postración, disnea y alopecia. Los animales se pesaron antes de cada sesión de quimioterapia.

Recolección y preparación de las muestras biológicas

La recolección de las muestras de sangre se llevó a cabo antes de cada sesión de quimioterapia (días 0, 21, 42, 63, 84), se procesaron y analizaron, inmediatamente después de la recolección, en el hospital antes mencionado.

Para el examen bioquímico se obtuvieron muestras de 5 ml de sangre, sin uso de anticoagulante; después de la coagulación y retracción del coágulo se obtuvieron las muestras de suero, las cuales fueron centrifugadas*** a 800 *g* durante cinco minutos, y mantenidas en refrigeración, durante tres horas, hasta su análisis.

Análisis de laboratorio

Con el propósito de determinar la concentración sérica del magnesio se utilizó el método Labtest, por medio de paquetes comerciales Labtest.†

*Ariston, Core Healthcare Ltda., Sachana, Gujarat, 1382.150 – India.

**Furosemida, Hipolabor, Farmacêutica Ltda., Sabará, Minas Gerais, Brasil.

***Execelsa baby II, Fanem, modelo 206-R. São Paulo, Brasil.

†LABQUEST, modelo BIO, 2000, Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santana, Minas Gerais, Brasil.

Renal protection and reduction of nephrotoxic effects of cisplatin are achieved through the use of fluid therapy based on 0.9% saline solution for three hours, plus the provision of diuretics.

Serum magnesium concentration

The average values and standard deviation for magnesium in Groups 1 and 2 during the experiment were within reference ranges (Table 1), no differences ($P < 0.05$) between groups were observed (Table 2). In relation to the time of evaluation, there was a difference between the mean values of serum magnesium in Groups 1 and 2 (Table 3).

Although mean serum concentrations of magnesium are within reference ranges, the values of Group 1 are greater than those in Group 2 during the time of evaluation (Figure 1).

Discussion

The administration of cisplatin decreases serum electrolytes,⁹ side effects limit its use, so there are studies of different protocols of diuresis, where toxic effects are minimize.

Emetic and diarrhea episodes of the animals in Group 1 (cisplatin) can be attributed to the fact of non-selectivity of cisplatin by the tumor cells, causing mucosal gastrointestinal injury.⁶ Only two animals in Group 1 (cisplatin) presented emetic episodes in the first 24 hours after chemotherapy sessions, probably due to prophylactic administration of metoclopramide hydrochloride in doses of 2 mg/kg, for its broad-spectrum anti emetic effects.²⁴

Clinical signs of hyporexia and subsequent weight loss produced by the animals treated with cisplatin can be explained by secondary inflammation of the oral epithelium, gastric mucosa and epithelial intestinal crypts.²⁵

Nephrotoxicity is the most important side effect in treatment with cisplatin, whereas the toxic effect is mainly related to the dose. In this study, intravenous infusion of cisplatin at a dose of 70 mg/m² was used every three weeks, and fluid therapy with 0.9% saline solution at a dose of 25 ml/kg/h, according to the protocol recommended by Ogilvie.¹¹ In addition, furosemide was administered in doses of 2 mg/kg intravenously 15 minutes before cisplatin infusion. With the protocols listed above, it was intended to protect the kidneys of cisplatin-induced nephrotoxicity, as recommended by Martins *et al.*¹³ The cisplatin diluted in high concentration of sodium chloride is not renal toxic.¹¹

Hypomagnesaemia is a common complication of chemotherapy with cisplatin in humans.²¹ However, serum concentrations of magnesium in dogs in

Análisis estadístico

Con el fin de establecer si hubo diferencia en los niveles séricos de magnesio entre los perros del Grupo 1 (con cisplatino) y los del Grupo 2 (testigo), los datos fueron sometidos a análisis de varianza. Para evaluar los efectos del cisplatino sobre el magnesio, los datos fueron analizados en un esquema de parcelas subdivididas, siendo las parcelas los grupos experimentales (factor entre los animales), y las subparcelas las sesiones de quimioterapia (factor dentro de los animales). Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y, al encontrar diferencia significativa, las medias fueron comparadas por el test de Tukey considerando nivel de significancia de 5%.²³

Resultados

Manifestaciones clínicas

Después de las sesiones de quimioterapia y terapia de líquidos, dos animales del Grupo 1 que recibieron cisplatino presentaron episodios de vómito y diarrea en las primeras 24 horas, pero sin signos clínicos de deshidratación. Respecto del apetito, se observó que los animales con tratamiento de quimioterapia presentaron disminución en la ingestión de alimentos al día siguiente de los ciclos de quimioterapia; los animales del Grupo 2 mantuvieron la ingestión normal de alimento a lo largo de todo el periodo experimental. En ambos grupos no se observaron alteraciones relacionadas con toxicidad gastrointestinal, micción, alteraciones cutáneas, postración, disnea o alopecia. Respecto del peso, hubo discreta disminución (promedio de 1.1 kg) en el grupo tratado con cisplatino, durante todo el experimento.

Durante las sesiones de quimioterapia y terapia de líquidos todos los animales permanecieron tranquilos, no presentaron signos clínicos que comprometieran su estado general.

La protección renal y disminución de los efectos nefrotóxicos del cisplatino se logró con la aplicación de terapia de líquidos a base de solución salina al 0.9% durante tres horas, más el suministro de diuréticos.

Concentración sérica del magnesio

Los valores medios obtenidos y el desvío del padrón para magnesio en los Grupos 1 y 2 a lo largo del experimento se encontraron dentro de los rangos de referencia (Cuadro 1), no se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre los grupos (Cuadro 2). En relación con los momentos de evaluación, se encontró diferencia entre los valores medios de la concentración sérica del magnesio entre los Grupos 1 y 2 (Cuadro 3).

Group 1 (cisplatin) were within the reference values. Hypomagnesaemia caused by this drug depends on the dose and number of cycles of chemotherapy, and low serum levels can reach dangerous levels for the patient's health.¹⁹ In this context, serum magnesium of animals in Group 1 kept stable during the four sessions of chemotherapy.

The administration of cisplatin in dogs causes magnesaemia decrease, due to abnormality in the transport of this ion in the distal renal tubules.²⁶

Aunque los valores medios de la concentración sérica del magnesio se encuentran dentro de los intervalos de referencia, se observa que los valores del Grupo 1 son mayores que los del Grupo 2 durante los tiempos de evaluación (Figura 1).

Discusión

La aplicación del cisplatino disminuye la concentración sérica de los electrolitos,⁹ los efectos colaterales

Cuadro 1

Valores medios y desviación estándar de la concentración sérica de magnesio (mmol/l) en perros bajo terapia con cisplatino y terapia de líquidos (Grupo 1) y sin cisplatino (Grupo 2)

Magnesium average and standard deviation concentration in serum (mmol/l) in dogs submitted to therapy with cisplastin (Group1) and fluid therapy without cisplastin (Group 2)

<i>Day evaluation</i>	<i>Group 1</i>	<i>Group 2</i>
0	1.81 ± 0.07	1.65 ± 0.12
21	2.20 ± 0.18	1.95 ± 0.25
42	1.93 ± 0.15	1.80 ± 0.08
63	2.15 ± 0.17	2.03 ± 0.32
84	1.93 ± 0.17	2.05 ± 0.24

Cuadro 2

Valores medios de la concentración sérica de magnesio (mmol/l) en perros bajo terapia con cisplatino y terapia de líquidos (Grupo 1) y sin cisplatino (Grupo 2)

Magnesium average concentration in serum (mmol /l) in dogs submitted to cisplastin therapy (Group1) and fluidtherapy without cisplastin (Group 2)

<i>Groups</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>Test F</i>	<i>DMS</i>
Magnesium	2.00a	1.89a	2.38NS	0.17

NS: not significant ($P > 0.05$).

Averages followed by the same lowercase letters in rows differ significantly by Tukey's test ($P > 0.05$).

Cuadro 3

Valores medios de la concentración sérica de magnesio (mmol/l), en perros bajo terapia con cisplatino y terapia de líquidos (Grupo 1) y sin cisplatino (Grupo 2) en los diferentes momentos de evaluación

Magnesium average concentration in serum (mmol /l) in dogs submitted to cisplastin therapy (Group1) and fluidtherapy without cisplastin (Group 2) at different times of assessment

<i>Day evaluation</i>	<i>0</i>	<i>21</i>	<i>42</i>	<i>63</i>	<i>84</i>	<i>Test F</i>	<i>DMS</i>
Magnesium	1.73b	2.08 ^a	1.86ab	2.09a	1.99ab	5.54	0.27

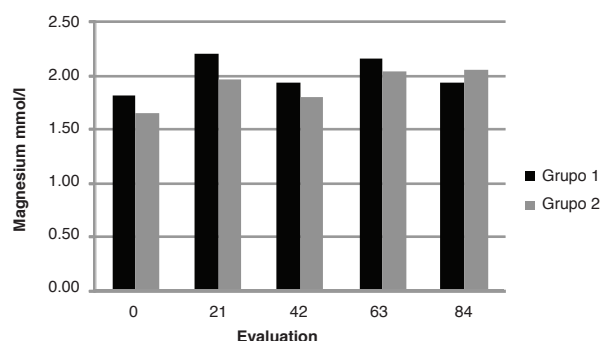


Figura 1. Representación gráfica de los valores medios de la concentración sérica de magnesio en perros, dentro de los Grupos 1 y 2.

Figure 1. Graphic representation of serum magnesium mean values in Groups 1 and 2.

Serum magnesium remained within reference values throughout the experimental period, indicating that administration of cisplatin did not alter the electrolyte concentrations in healthy dogs.

Although the results of this experiment have remained within the reference values for the species studied, gradual decrease was noted in the mean magnesium from the third session of chemotherapy. This observation is consistent with statements made by Hodgkinson *et al.*,¹⁹ who concluded that nephrotoxicity caused by cisplatin administration increases with the number of cycles of chemotherapy.

With doses of 70 mg / m², 20-minute infusion, administered in four sessions at intervals of 21 days, together with three hours of fluid therapy in doses of 25 ml/hour, it was concluded that the number of sessions of chemotherapy increases the risk of hypomagnesaemia presentation, and that the protocol used in this experiment did not significantly alter the magnesium concentration in serum. However, it is necessary the accomplishment of another study in dogs to evaluate the effects of cisplatin in magnesium concentration in serum, but without using it in combination with fluid therapy and with a major number of cycles.

Acknowledgements

Special thanks to Dr. Carlos Roberto Daleck, for his guidance, friendship and understanding to carry out this work. To the Universidad de Nariño for its important support in the Master's study, which has enabled the growth and development of the Departamento de Cirugía del Programa de Medicina Veterinaria. Staff of Servicio de Oncología: Andriago Barbosa de Nardi, Sabrina Gouveia Calanzans, Crestoni Simone Fernandes, Sabrina Marin Teotônio Rodigheri and João Humberto Castro, for the exchange of academic and professional experiences.

que causa limitan su uso, por ello existen estudios de diferentes protocolos de diuresis, con la intención de minimizar sus efectos tóxicos.

Los episodios eméticos y diarreicos presentados por los animales del Grupo 1 (con cisplatino) pueden ser atribuidos al hecho de la no selectividad del cisplatino por las células neoplásicas, causando lesión en la mucosa gastrointestinal.⁶ Sólo dos animales del Grupo 1 (con cisplatino) presentaron episodios eméticos en las primeras 24 horas posteriores a las sesiones de quimioterapia, posiblemente se debió a la administración preventiva de clorhidrato de metoclopramida a dosis de 2 mg/kg, por sus efectos antieméticos de amplio espectro a nivel central.²⁴

Los signos clínicos de hiporexia y subsiguiente pérdida de peso presentados por los animales tratados con cisplatino pueden explicarse por la inflamación secundaria del epitelio oral, mucosa gástrica y criptas del epitelio intestinal.²⁵

La nefrotoxicidad es el efecto colateral de mayor importancia en los tratamientos con cisplatino, considerando que el efecto tóxico está relacionado principalmente con la dosis. En este estudio, se utilizó infusión intravenosa de cisplatino, en dosis de 70 mg/m², a intervalos de tres semanas, y terapia de líquidos con solución salina a 0.9%, en dosis de 25 ml/kg/h, conforme al protocolo recomendado por Ogilvie.¹¹ Además, se administró furosemina en dosis de 2 mg/kg, por vía intravenosa, 15 minutos antes de la infusión de cisplatino. Con los protocolos arriba mencionados se buscó proteger a los riñones de la nefrotoxicidad inducida por el cisplatino, como lo recomiendan Martins *et al.*¹³ El cisplatino diluido en solución con alta concentración de cloruro de sodio no presenta toxicidad renal.¹¹

La hipomagnesemia es una complicación común en quimioterapia con cisplatino en humanos.²¹ Sin embargo, las concentraciones séricas de magnesio de los perros del Grupo 1 (con cisplatino) se presentaron dentro de los valores de referencia. La hipomagnesemia causada por este fármaco depende de la dosis y del número de ciclos de quimioterapia, y la baja concentración sérica puede alcanzar niveles peligrosos para la salud del paciente.¹⁹ En este contexto, la concentración sérica de magnesio de los animales del Grupo 1 se mantuvo estable durante las cuatro sesiones de quimioterapia.

La administración de cisplatino en perros causa disminución de la magnesemia debido a la anomalía en el transporte de este ion en los túbulos renales distales.²⁶

Las concentraciones séricas de magnesio permanecieron dentro de los valores de referencia durante todo el periodo experimental, lo cual indica que la administración de cisplatino no alteró las

Referencias

1. ANTUNES L M, BIANCHI M L. Antioxidantes da dieta como inibidores da nefrotoxicidade induzida pelo antitumoral cisplatina. *Rev Nutr* 2004; 17: 89-96.
2. LEE R H, SONG J M, PARK M Y, KANG S K, KIM Y K, JUNG J S. Cisplatin-induced apoptosis by translocation of endogenous Bax in mouse collecting duct cells. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 1013-1023.
3. McKNIGHT J A. Principles of chemotherapy. *Clin Tech Small Anim Pract* 2003; 18: 67-72.
4. WALLACE B M. Cancer drug pharmacology and clinical experience. In: WALLACE B M, editor. *Cancer in dogs and cats*. China: Teton NewMedia, 2002: 349-353.
5. BRADELIN H A, MANSOUR S, AL M. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin. *Food Chem Toxicol* 2006; 44:1173-1183.
6. DAGLI M L Z. Agentes Antineoplásicos. Em: SPINOSA H, GÓRNIAC S M, BERNARDI M M, editores. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002: 581-595.
7. ANDRADE S F. Terapêutica antineoplásica. Em: ANDRADE S F. *Manual de terapêutica veterinária*. São Paulo: ROCA, 2002: 179-198.
8. OGILVIE G K. Chemotherapy. In: OGILVIE G K, editor. *Managing the veterinary cancer patient*. New Jersey: Veterinary Learning Systems, 1995: 79-81.
9. RODASKI S, DE NARDI A B. Classificação dos quimioterápicos. Em: RODASKI S, DE NARDI A B, editores. *Quimioterapia antineoplásica em cães e gatos*. Curitiba: Bio Editora, 2006: 69-73.
10. LANORE D, DELPRAT C. Principais drogas. Em: LANORE D, DELPRAT C, editores. *Quimioterapia anticancerígena*. São Paulo: ROCA, 2004: 105-113.
11. OGILVIE G K. Chemotherapy and the surgery patient: Principles and recent advances. *Clin Tech Small Anim Pract* 1998; 13: 22-32.
12. LAJER H, KRISTENSEN M, HANSEN H H, NIELSEN S, FROKIAER J, OSTERGAARD L F *et al*. Magnesium depletion enhances cisplatin – induced nephrotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 535-542.
13. MARTINS M R, DALECK C R, CARVALHO M B, CALADO E B, ZILLOTTO L, DA SILVA F M M. Avaliação dos efeitos de dois protocolos para administração de cisplatina sobre a função renal de cães. *Ata Cirúrgica Bras* 2003; 18: 314-319.
14. BADARY O A, ABDEL – MAKSOUD S, AHMED W A, OWIEDA G H. Naringenin Attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sci* 2005; 76: 2125-2135.
15. CHEW D J, BATEMAN S W. Fluidoterapia para Cães e Gatos. Em: BIRCHARD S J, SHERDING R G, editores. *Clinica de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 2003: 70-80.
16. NELSON R W, COUTO C G. Princípios de tratamento do câncer. Em: NELSON R W, COUTO C G, editores. *Medicina interna de pequenos animais*. Rio de Janeiro: Guanabara - Koogan, 2001: 864-866.
17. WEISS-GUILLET E M, TAKALAJ, JAKOB S M. Diagnosis and management of electrolyte emergencies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17: 623-651.
- concentrações de este eletrólito em perros sanos.
- Aunque los resultados de este experimento se hayan mantenido dentro de los valores de referencia para la especie en estudio, se notó disminución gradual en las medias del magnesio a partir de la tercera sesión de quimioterapia. Esta observación concuerda con lo manifestado por Hodgkinson *et al.*,¹⁹ quienes concluyeron que la nefrotoxicidad causada por la administración de cisplatino aumenta con el número de ciclos de quimioterapia.
- Con dosis de 70 mg/m², en infusión de 20 minutos, aplicada en cuatro sesiones a intervalos de 21 días, conjuntamente con tres horas de terapia de líquidos en dosis de 25 ml/h, se concluyó que el número de sesiones de quimioterapia aumenta el riesgo de presentación de hipomagnesemia, y que el protocolo utilizado en este experimento no alteró significativamente la concentración sérica del magnesio. Sin embargo, se cree conveniente la realización de otro estudio para evaluar los efectos del cisplatino en el magnesio sérico de perros, pero sin la administración conjunta de terapia de líquidos o, incluso, en mayor número de ciclos.

Agradecimientos

Se agradece al Dr. Carlos Roberto Daleck, por su orientación, amistad y comprensión para la realización de este trabajo, y por la oportunidad de crecimiento. A la Universidad de Nariño por el importante apoyo brindado durante los estudios de maestría, los cuales han permitido el crecimiento y desarrollo del Departamento de Cirugía del Programa de Medicina Veterinaria. Al personal del Servicio de Oncología: Andriago Barbosa de Nardi, Sabrina Gouveia Calanzans, Simone Crestoni Fernandes, Sabrina Marin Rodigheri y João Humberto Teotônio de Castro, por el intercambio de experiencias académico-profesionales.

18. RAFFE M R. Fluidoterapia e terapia por eletrólitos e meios ácido – básicos no paciente cirúrgico. Em: SLATTER D, editor. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. São Paulo: Editora Manole, 1998: 13-35.
19. HODGKINSON E, NEVILLE-WEBBEY H L, COLEMANY R E. Magnesium depletion in patients receiving Cisplatin-based chemotherapy. *Clin Oncol* 2006; 18: 710-718.
20. AL – TWEIGER T, MAGLIOCCO A M, DECOTEAU J F. Cortical Blindness as a Manifestation of Hypomagnesemia Secondary. *Gynecol Oncol* 1999; 72: 120-122.
21. LAJER H, DAUGAARD G. Cisplatin and hypomagnesemia. *Cancer Treat Rev* 1999; 25: 47-58.
22. WOLF F I, MAIER J A M, NASULEWIEZ A, FEILLET-COUDRAY C, SIMONACCIM, MAZURA *et al*. Magnesium and neoplasia: from carcinogenesis to tumor growth and progression or treatment. *Arch Biochem Biophys* 2006; 458: 24-32.

23. BEIGUELMAN B A. Análise de variância. Em: BEIGUELMAN BA, editor: Curso pratico de Bioestatística. Ribeirão Preto: FUNPEC – Editora, 2002: 189-219.
24. MORROW G R, HICKOK J T, ROSENTHAL S N. Progress in reducing nausea and emesis. Cancer 1995; 76: 343-357.
25. O'KEEFE D A, HARRIS C L. Toxicology of oncologic drugs. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1990; 20: 483-504.
26. HARDIE E M, PAGE R L, WILLIAMS P L, FISCHER W D. Effect of time of cisplatin administration on its toxicity and pharmacokinetics in dogs. Am J Vet Res 1991; 52: 1821-1825.