



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**LARISSA FEITOSA CARVALHO**

**O USO DE SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES NO TRATAMENTO DE  
NEUROPATIA PERIFÉRICA INDUZIDA POR QUIMIOTERAPIA EM MODELOS  
EXPERIMENTAIS**

**ARACAJU  
2017**

**LARISSA FEITOSA CARVALHO**

**O USO DE SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES NO TRATAMENTO DE  
NEUROPATIA PERIFÉRICA INDUZIDA POR QUIMIOTERAPIA EM MODELOS  
EXPERIMENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Andrade  
Carvalho

**Coorientador:** Prof. Dr. Ricardo Luiz  
Cavalcanti de Albuquerque Júnior

**ARACAJU  
2017**

C331u Carvalho, Larissa Feitosa  
O uso de substâncias antioxidantes no tratamento de neuropatia periférica induzida por quimioterapia em modelos experimentais / Larissa Feitosa Carvalho ; orientadora Adriana Andrade Carvalho ; coorientador Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior. – Aracaju, 2017.  
50 f.: il. color.

Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Neuropatia Periférica. 2. Quimioterapia. 3. Antioxidantes. I. Carvalho, Adriana Andrade, orient. II. Albuquerque Júnior, Ricardo Luiz Cavalcanti de, coorient. III. Título.

CDU 616.85:615.28

**LARISSA FEITOSA CARVALHO**

**O USO DE SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES NO TRATAMENTO DE  
NEUROPATIA PERIFÉRICA INDUZIDA POR QUIMIOTERAPIA EM MODELOS  
EXPERIMENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: 14/08/2017

---

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Andrade Carvalho**

---

**1º Examinador: Dr.<sup>a</sup> Adriana Gibara Guimarães**

---

**2º Examinador: Dr.<sup>a</sup> Luciana Nalone Andrade**

## AGRADECIMENTOS

Ninguém faz nada sozinho. Por isso, neste momento tão especial, há muitas pessoas a quem gostaria de agradecer. Primeiramente, agradeço aos meus pais (Carvalho e Fátima) e aos meus irmãos (Alã e Marina) por serem a minha base e estarem presentes em tudo que faço. Agradeço aos demais membros da minha amada família e aos meus amigos (♥) pela torcida e pela compreensão nos momentos de ausência, que não foram poucos.

Agradeço imensamente à Dr<sup>a</sup>. Karina Ferreira e ao Dr. Aécio Cavalcanti por serem mais do que patrões e por terem me estimulado de todas as formas à concretização deste sonho. Vocês foram meus verdadeiros incentivadores nesta jornada. Às minha colegas/amigas/parceiras de trabalho: Cacilda, Renata, Glória, Neydiany, Anúsia e, principalmente, Anne Caroline, agradeço por todo apoio e união. Sem o auxílio e desprendimento de vocês nada disso seria possível. Vocês tem minha gratidão eterna. Aos demais colegas que compõem a Família Vitta, agradeço pela torcida e pela leveza da convivência diária. Não posso deixar de agradecer aos estagiários que passaram pelo setor de farmácia da clínica, neste período, por toda ajuda que nos deram. Minha gratidão, Cecília (Ceci), Kamila, Igor, Laryssa (Lary), Laysa, Louise (Lou), Dayanne (Day), Shyanne (Shay) e Ingrid.

Aos colegas da turma de Mestrado em Ciências da Saúde de 2015, agradeço pela maravilhosa convivência dentro e fora da sala de aula, pela amizade e pelos momentos de ‘perrengues’ que foram compartilhados. Nossa turma é muito especial (lembro-me que algum professor disse isso, uma vez, e ele tem toda razão). Um beijo no coração de tod@s. Sinto saudades. Aos professores Dr. Luiz Carlos Ferreira, Dr. Kleyton Bastos e Dr.<sup>a</sup> Rosana Cipolotti, serei sempre grata pelos riquíssimos ensinamentos passados e pelo prazer que proporcionavam dentro da sala de aula. Vocês fizeram todo o esforço da junção ‘trabalho + estudo’ valer a pena.

Aos colegas que fazem parte do Laboratório de Pesquisa em Oncologia Clínica e Experimental (LAPOCE/UFS), agradeço pelo companheirismo. A Ricardo Amaral, agradeço por todas as orientações que me deu no início da caminhada e por ser aquele com quem podia contar em qualquer momento. À Luciana Nalone e Robério Oliveira, agradeço por terem sido meus anjos na reta final. À minha querida

Cecília Fonseca (Ceci), agradeço, mais uma vez, agora por ter sido meu braço direito e por ter ficado disponível sempre que foi necessário.

A Rafael Valois (Rafa) e à Rose Nely (Laboratório de Morfologia e Biologia Estrutural – LMBE/ITP/UNIT), agradeço pela presteza em me ajudarem no que foi preciso. Ao meu querido coorientador Prof. Dr. Ricardo Albuquerque (LMBE/ITP/UNIT), agradeço de coração a parceria antiga e os momentos de ensinamento que foram sempre tão enriquecedores.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Andrade Carvalho (LAPOCE/UFS), agradeço por ter topado me orientar nesta jornada maluca. Agradeço por todos os momentos em que confiou em mim, até mais do que eu mesma confiava.

Ao meu amado noivo Daniel Argolo Santos, agradeço por ter sido meu porto seguro desde o primeiro momento desta jornada. Agradeço por toda a paciência com minhas mudanças de humor e momentos de angústia, quando eu achava que tudo estava perdido. Agradeço por ter me acalentado quando foi necessário e por ter apoiado meus momentos de renúncia ao lazer em prol da realização das obrigações e do estudo. Te amo mais, meu amor.

Por fim, agradeço a todos que cruzaram meu caminho durante estes (longos) 2 anos e meio e que, de alguma forma, tornaram meu fardo um pouco mais leve.

“Deus é bom o tempo todo. O tempo todo Deus é bom.” Gratidão.

*“Só é feliz quem é livre.  
Só é livre quem assume responsabilidade.”*

*Sebastião Camargo*

## RESUMO

O Uso de Substâncias Antioxidantes no Tratamento de Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia em Modelos Experimentais. Larissa Feitosa Carvalho. 2017.

A Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia (NPIQ) é caracterizada pela ação tóxica de alguns medicamentos utilizados no tratamento do câncer sobre os nervos periféricos. Aproximadamente 48% dos pacientes tratados com múltiplos agentes têm algum grau de NPIQ e os principais sintomas envolvem: enfraquecimento ou perda sensorial, dormência, formigamento, sensibilidade à temperatura, alodinia e hiperalgesia, numa distribuição chamada de "bota e luva" (nas mãos e nos pés). Não há definição de uma abordagem farmacológica específica para a NPIQ capaz de mostrar benefício clínico relevante. Entretanto, nos últimos anos uma série de possíveis drogas neuroprotetoras tem sido investigada como alternativa de prevenção ou tratamento à NPIQ. Neste contexto, encontram-se as substâncias antioxidantes, que têm sido utilizadas há séculos na medicina preventiva e os estudos epidemiológicos sustentam a ideia de que existe uma relação inversa entre os níveis de antioxidantes em um organismo e o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Diferentes estratégias para prevenir e/ou tratar a NPIQ vem sendo desenvolvidas em modelos pré-clínicos com animais. Entretanto, quando analisadas as metodologias empregadas neste tipo de estudo, algumas fragilidades metodológicas surgem e torna-se evidente a necessidade de uma maior interação entre as metodologias desenvolvidas para os estudos experimentais e os estudos clínicos. Desta forma, o objetivo do nosso trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre o uso de substâncias antioxidantes para o tratamento de neuropatia periférica induzida por quimioterapia, em modelos experimentais. Foi realizada uma busca nas bases de dados SCOPUS, PUBMED e SCIENCE DIRECT, nos meses de Fevereiro e Março de 2016, que abrangeu os trabalhos publicados a partir do ano de 2006. 25 artigos foram utilizados para elaboração da versão final da revisão.

Palavras-chave: Neuropatia Periférica. Quimioterapia. Antioxidantes.

## **ABSTRACT**

The Use of Antioxidant Agents for Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy Treatment in Animal Models. Larissa Feitosa Carvalho. 2017.

Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (NPIQ) is characterized by the toxic action of some medications used to treat cancer on the peripheral nerves. Approximately 48% of patients treated with multiple agents have some degree of NPIQ and the main symptoms involve: weakening or sensory loss, numbness, tingling, temperature sensitivity, allodynia, and hyperalgesia in a 'stocking and glove' format distribution. There is no definition of a pharmacological approach specific to NPIQ capable of showing relevant clinical benefit. However, in recent years a number of possible neuroprotective drugs have been investigated as an alternative for prevention or treatment of NPIQ. In this context, there are the antioxidant substances that have been used for centuries in preventive medicine and epidemiological studies support the idea that there is an inverse relationship between the levels of antioxidants in an organism and the development of neurodegenerative diseases. Different strategies to prevent and / or treat NPIQ have been developed in pre-clinical models with animals. However, when analyzing the methodologies used in this type of study, some methodological weaknesses arise and it becomes evident the need for a greater interaction between the methodologies developed for the experimental studies and the clinical studies. Thus, the objective of our study was to review the literature on the use of antioxidant substances for the treatment of peripheral neuropathy induced by chemotherapy in experimental models. A search of the SCOPUS, PUBMED and SCIENCE DIRECT databases was carried out in February and March 2016, which covered the works published since 2006. 25 articles were used to prepare the final version of the review.

**Keywords:** Peripheral Neuropathy. Chemotherapy. Antioxidants.

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Exemplos de Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio ..... | 18 |
|---------------------------------------------------------------------------|----|

### No artigo científico

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1. The Molecular Actions of Antineoplastic Agents That Cause Peripheral Nerve Damage ..... | 27 |
| Table 1. Antioxidants Agents and Methodology Applied in Animal Models .....                       | 33 |

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

DNA – Ácido Desoxirribonucléico  
ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio  
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio  
IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 Beta  
IL-6 – Interleucina 6  
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana  
MAPK – Proteína Quinase Ativada por Mitógeno  
NMDA – N-Metil-D-Aspartato  
NPIQ – Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia  
PKC – Proteína Quinase C  
TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral Alfa  
TRPV – Receptor Potencial Transitório Vanilóide

### No Artigo Científico

CIPN – Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy  
CISPLA – Cisplatin  
CoQ10 – Coenzyme Q10  
GJG – Goshajinkigan  
IL-1 $\beta$  – Interleukin 1 Beta  
IL-6 – Interleukin 6  
LPO – Lipid Peroxidation  
LPP1 - 3-[4-(3-Trifluoromethyl-Phenyl)-Piperazin-1-yl]-Dihydrofuran-2-One  
OXALI – Oxaliplatin  
PACLI – Paclitaxel  
PC – Phosphatidylcholine  
ROS – Reactive Oxygen Species  
SOD - Superoxide Dismutase  
TBARS - Thiobarbituric Acid Reactive Substances  
TNF- $\alpha$  – Tumor Necrosis Factor Alpha  
TRPA1 - Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily A Member 1  
TRPV1 - Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 1  
VINCRI – Vincristin

## SUMÁRIO

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                     | <b>11</b> |
| <b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>                                          | <b>14</b> |
| 2.1 Neuropatia Periférica Induzida Por Quimioterapia.....                      | 14        |
| 2.2 Antioxidantes .....                                                        | 17        |
| 2.3 Modelos Experimentais na Pesquisa da NPIQ .....                            | 19        |
| <b>3. OBJETIVOS .....</b>                                                      | <b>22</b> |
| 3.1 Objetivo Geral .....                                                       | 22        |
| 3.2 Objetivos Específicos.....                                                 | 22        |
| <b>4. ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>                                              | <b>23</b> |
| 4.1 Introduction .....                                                         | 23        |
| 4.2 Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy - Mechanisms of Formation ..... | 24        |
| 4.2.1 Cisplatin .....                                                          | 24        |
| 4.2.2 Oxaliplatin .....                                                        | 24        |
| 4.2.3 Paclitaxel.....                                                          | 25        |
| 4.2.4 Vincristin .....                                                         | 26        |
| 4.3 Antioxidant Agents and Applied Methodology .....                           | 27        |
| 4.4 Conclusion .....                                                           | 32        |
| 4.5 References.....                                                            | 39        |
| <b>5. CONCLUSÃO .....</b>                                                      | <b>42</b> |
| <b>6. PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>                                           | <b>43</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                       | <b>44</b> |
| <b>APÊNDICE .....</b>                                                          | <b>47</b> |
| <b>ANEXO .....</b>                                                             | <b>48</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Neuropatia é um termo que se refere à doenças ou mau funcionamento dos nervos. Normalmente, é classificada de acordo com os tipos ou a localização dos nervos afetados em: neuropatia central, autonômica ou periférica [1]. A neuropatia central é caracterizada por alterações neurológicas no encéfalo e/ou na medula espinhal [2]. A neuropatia autonômica afeta o sistema nervoso autônomo, que controla o funcionamento de órgãos como: coração, pulmões, estômago, intestinos e bexiga [3]. A neuropatia periférica é originada por danos no sistema nervoso periférico (fibras e gânglios nervosos) [4].

Diversas podem ser as condições que provocam o quadro de neuropatia, entre elas: doenças como *Diabetes Mellitus*, Artrite Reumatóide, Lupus ou *Guillain-Barre*; infecções pelos vírus HIV, Sífilis ou Varicela; alterações genéticas; deficiências nutricionais; etilismo; trauma físico; compressão tumoral; medicamentos ou substâncias tóxicas e causas idiopáticas [1].

A Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia (NPIQ) é caracterizada pela ação tóxica de alguns medicamentos utilizados no tratamento do câncer sobre os nervos periféricos [5]. Fármacos como: Cisplatina, Oxaliplatina, Paclitaxel, Docetaxel, Vincristina, Bortezomibe e Brentuximabe são amplamente utilizados no tratamento de vários tumores sólidos e sanguíneos. No entanto, a gravidade da neuropatia periférica causada por estes agentes pode afetar a qualidade de vida do paciente e pode resultar em reduções de dose de quimioterapia e até mesmo descontinuação precoce do tratamento [6,7].

Aproximadamente 48% dos pacientes tratados com múltiplos agentes têm algum grau de NPIQ e a gravidade dos efeitos depende de fatores individuais, da dose cumulativa, da duração, exposição ou estrutura química do agente antineoplásico e das terapêuticas combinadas [8]. A NPIQ é uma neuropatia predominantemente sensorial, que pode ser acompanhada por mudanças motoras e autonômicas [6]. Semelhante à outras condições de dor neuropática, a dor na NPIQ pode ser estímulo-dependente ou independente. Os principais sintomas envolvem: enfraquecimento ou perda sensorial, dormência, formigamento, sensibilidade à temperatura, alodinia e hiperalgesia, numa distribuição chamada de "bota e luva" (nas mãos e nos pés) [6,7,9,10].

Apesar da alta frequência da NPIQ durante o tratamento oncológico e das limitações terapêuticas importantes que esta pode ocasionar, até o presente

momento, não há definida uma abordagem farmacológica específica para a NPIQ capaz de mostrar benefício clínico relevante [7]. O uso de opióides, anticonvulsivantes e antidepressivos para controle sintomático provém de resultados positivos destes medicamentos em outras neuropatias, como a diabética e a pós-herpética, que apresentam sintomatologia e fisiopatologia diferentes da NPIQ [11].

Em algumas situações, tenta-se diminuir o quadro sintomático, como ocorre com o uso da Duloxetina, que é um antidepressivo da classe dos inibidores de recaptação seletiva de serotonina e noradrenalina [7, 12]. Entretanto, nos últimos anos uma série de possíveis drogas neuroprotetoras tem sido investigada como alternativa de prevenção ou tratamento à NPIQ, mas a evidência obtida em ensaios clínicos ainda é escassa, tanto em parâmetros relacionados à eficácia quanto à segurança [7].

O estresse oxidativo, que é caracterizado como um desequilíbrio causado por superprodução de espécies radicais livres [13], está intimamente associado ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como é o caso da NPIQ, promovendo danos moleculares em componentes celulares, como: oxidação de proteínas, oxidação lipídica, oxidação de DNA e glicoxidação [14]. Em contrapartida, substâncias antioxidantes têm sido utilizadas há séculos na medicina preventiva e os estudos epidemiológicos sustentam a ideia de que existe uma relação inversa entre os níveis de antioxidantes em um organismo e o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas [14]. Considera-se como 'antioxidante' qualquer substância, presente em baixas concentrações, quando comparada ao substrato oxidável, capaz de retardar efetivamente ou inibir a oxidação do substrato [15].

Levando-se em consideração a importância do tratamento quimioterápico para um paciente com câncer, o uso de substâncias neuroprotetoras, como é o caso dos agentes antioxidantes, é considerada uma estratégia promissora; pois visam diminuir a neurotoxicidade associada aos antineoplásicos, fornecendo proteção para o tecido saudável sem comprometer a eficácia antitumoral [16].

Diferentes estratégias para prevenir e/ou tratar a NPIQ vem sendo desenvolvidas em modelos pré-clínicos e, quando são obtidos resultados promissores, algumas chegam à fase de ensaios clínicos. Quando não há a possibilidade de extrapolação da fase pré-clínica para a clínica, as razões são justificadas pela presença de eventos adversos, dificuldade na administração dos fármacos, ou nos parâmetros farmacocinéticos [17]. Neste sentido, o objetivo do

nosso trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre o uso de substâncias antioxidantes para o tratamento de neuropatia periférica induzida por quimioterapia, em modelos experimentais.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia

A alta frequência de Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia (NPIQ) configura-se em um objeto importante de pesquisas científicas, pois está relacionada a um dos maiores problemas de saúde pública mundial. O câncer é a segunda maior causa de mortes no mundo e foi responsável por mais de 8,8 milhões de mortes em 2015 [18]. No Brasil, a estimativa de incidência para os anos de 2016/2017 foi de 600 mil casos [19].

A neuropatia periférica está associada a um conjunto de sinais e sintomas característicos [1]. O dano aos nervos sensoriais ocorre e os sintomas geralmente iniciam nos pés, com uma gradual perda sensorial, dormência, formigamento ou dor e progresso em direção aos membros superiores, culminando numa distribuição conhecida como “bota e luva” (do inglês: *stocking and glove*). A sensibilidade extrema ao toque, ou alodinia, pode ser outro sintoma. Há também quadros de hiperalgesia, que é caracterizada pela exacerbação de estímulos dolorosos [6,7,9,10].

Quando ocorrem danos nos nervos motores, os sintomas incluem: fraqueza, perda de reflexos, perda de massa muscular, câibras ou perda de destreza [1]. No caso da NPIQ, pode haver o desenvolvimento paralelo de neuropatia autonômica, que afeta nervos que controlam a função de órgãos e glândulas. Alguns sintomas podem surgir como: náuseas, vômitos, incontinência urinária, impotência sexual, tonturas, constipação ou diarreia, visão turva, intolerância ao calor, entre outros [1,6].

A razão de muitos agentes antineoplásicos diferentes apresentarem perfis de neuropatia semelhantes não está clara. No entanto, os efeitos das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  nos tecidos neuronais, tais como neurônios sensoriais periféricos, são considerados como causa de NPIQ [6,20,21]. Sabe-se que os agentes antineoplásicos produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) para induzir apoptose em células tumorais [22,23]. No entanto, o estresse oxidativo gerado durante a quimioterapia pode interferir no funcionamento dos tecidos normais e pode estar associado a vários eventos tóxicos, como cardiotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, entre outros [20, 23].

A ausência de uma barreira vascular eficiente, o alto teor de fosfolipídeos, alta concentração de mitocôndrias e um deficiente sistema de defesa antioxidante tornam o sistema nervoso periférico, de maneira geral, mais suscetível à injúrias provenientes de processos químicos e estresse oxidativo. Danos em nervos periféricos, associados ao Paclitaxel, Docetaxel, Vincristina e Bortezomibe, são caracterizados por vários mecanismos de estresse oxidativo como dano microtubular, disfunção mitocondrial, apoptose neuronal, etc [6,20, 21,24].

Lesões nos microtúbulos provocam comprometimento na transmissão axonal e disfunção mitocondrial, o que provoca a desregulação dos níveis de cálcio e a ativação de caspases, conduzindo assim a célula neuronal à apoptose. Estas alterações, por conseguinte, estimulam as células da microglia a libertarem os mediadores pró-inflamatórios e fatores de crescimento para as áreas danificadas, levando à sensibilização periférica, provocando descarga espontânea e hiperexcitabilidade [6,20,21,24]. Desregulações no funcionamento dos canais iônicos alteram a transdução de estímulos sensoriais e provocam uma superabundância de neurofilamentos no corpo celular neuronal, contribuindo com as disestesias e parestesias clínicas induzidas pelos antineoplásicos [25].

Os compostos derivados de platina como Cisplatina e Oxaliplatina podem afetar o DNA mitocondrial, levando à disfunção mitocondrial e também induzir a apoptose neuronal através da ativação da via de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK). Estes agentes quimioterápicos também são relatados como causadores de sensibilização periférica pela regulação ascendente de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), receptores vanilídeos (TRPV) e proteína kinase C (PKC). A Oxaliplatina ainda altera a condutância de canais de sódio, através da quelação de cálcio. Todos estes efeitos podem danificar os neurônios sensoriais, tais como as fibras A $\delta$  e C, o que conduz à dor neuropática [6,20,21].

Os neurônios sensoriais podem ser classificados como: A $\beta$ , A $\delta$  ou C, com base no tamanho do corpo celular, diâmetro do axônio, grau de mielinização e velocidade de condução do estímulo [26]. As fibras de tipo C são menores e mais abundantes, com axônios não mielinizados e uma velocidade de condução mais lenta (0,2 – 2 m/s). As fibras A $\delta$  e A $\beta$  possuem tamanhos de células média e grande, respectivamente, e são mielinizadas. A velocidade de condução da fibra A $\delta$  é considerada intermediária e varia entre 5 – 30 m/s, enquanto que as fibras A $\beta$  possuem rápida condução, com velocidade entre 16 – 100 m/s [26,27]. A maioria

das fibras de A $\beta$  apresenta baixo limiar mecânico, enquanto que as fibras A $\delta$  são nociceptores de respostas a estímulos nocivos mecânicos e térmicos. Por outro lado, as fibras C respondem aos estímulos mecânicos, mas não aos térmicos [25,26].

O quadro de alodinia tátil, característico da NPIQ, é ocasionado devido a impulsos transportados ao longo de fibras residuais A, com sensibilização do corno dorsal. Além disso, a diminuição dos limiares mecânicos nos nociceptores mielinizados, após lesão periférica, também pode contribuir para a alodinia. Fibras C hiperresponsivas desencadeiam significativamente mais potenciais de ação em resposta a um estímulo mecânico e provavelmente contribuem para o quadro de hiperalgesia. Além disso, a hiperatividade da fibra C pode sensibilizar os neurônios do corno dorsal, tornando-os mais sensíveis à entrada de fibra A da periferia, contribuindo indiretamente para a alodinia [25,26,28].

Em contrapartida, vários pesquisadores tentam elencar fatores de risco para o desenvolvimento da NPIQ. Polimorfismos de nucleotídeos simples associados à disfunções em canais de sódio voltagem-dependente ou disfunções em proteínas de função nas Células de Schwann, associação à receptores de colágeno na superfície celular, receptores envolvidos em apoptose neuronal ou à enzimas envolvidas no metabolismo do Piruvato podem ser responsáveis pelos mecanismos moleculares de formação da NPIQ. Fatores de risco clínicos avaliados incluem: neuropatia basal, histórico de tabagismo e diminuição da depuração da creatinina [8].

Infelizmente, não existe um tratamento padrão para a NPIQ. Meta-análises de ensaios clínicos para a prevenção NPIQ apresentam resultados inconclusivos e as opções de tratamento também são limitadas [7]. Muitas classes de fármacos como antidepressivos (Amitriptilina, Imipramina), antioxidantes (Vitamina E, Ácido Alfa-lipóico, Glutathione), anticonvulsivantes (Gabapentina, Pregabalina, Carbamazepina e Oxcarbazepina), opióides (Oxicodona, Tramadol, Morfina, Metadona), agentes anti-espasmódicos, canabinóides e outros têm sido utilizados na prática clínica, mas não há comprovações científicas suficientes para provar a sua eficácia. Esses agentes são prescritos com base em dados que suportam a utilidade em outras condições de dor neuropática [7,8,12,29].

Apenas um estudo controlado, randomizado, duplo-cego demonstrou melhora nos sintomas da NPIQ após 5 semanas de tratamento com Duloxetina, que é um antidepressivo da classe dos inibidores de recaptação de serotonina e noradrenalina

[7,29]. Esta é uma situação de extrema relevância clínica, inclusive com orientações delineadas pela *American Society of Clinical Oncology* (ASCO), que é responsável pela determinação de vários protocolos de tratamento oncológico em nível mundial. Em documento de consenso, a ASCO reconhece que o tratamento com a Duloxetina configura a melhor opção existente, porém sem conferir a condição de tratamento-padrão [7]. Há também estudos que avaliam a eficácia de terapias alternativas, como a Acupuntura, que apresentam alguns resultados significativos, mas ainda insuficientes [30].

## 2.2 Antioxidantes

Substâncias antioxidantes despertam grande interesse da comunidade científica porque auxiliam na proteção do corpo humano contra danos causados pelo estresse oxidativo. Uma ampla definição do termo 'antioxidante' caracteriza qualquer substância que, presente em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, retarda significativamente ou inibe a oxidação deste [15]. Muitas vezes, o termo está implicitamente restrito a inibidores de ruptura de cadeia da peroxidação lipídica; porém, os radicais livres gerados *in vivo*, decorrentes de diversos processos fisiológicos, danificam outros alvos além de lipídios, incluindo proteínas, carboidratos e DNA [15,22].

'Radical livre' é definido como um átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons não pareados. Geralmente são classificados em: espécies reativas de oxigênio (EROs) ou espécies reativas de nitrogênio (ERNs) [22]. As EROs incluem radicais livres que transportam oxigênio, bem como outras espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio, que não é um radical livre. Da mesma forma, as ERNs incluem ambos, os radicais livres contendo nitrogênio e outras moléculas reativas em que o centro de reatividade é o nitrogênio [22] (tabela 1). Tanto as EROs quanto as ERNs são produtos do metabolismo celular normal e atuam como mensageiros secundários que controlam várias funções fisiológicas do organismo. A superprodução delas (por estimulação excessiva de NADPH por citocinas, pela cadeia de transporte de elétrons mitocondrial ou xantina oxidase) é que resulta em estresse oxidativo [31].

Tabela 1. Exemplos de Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio

|                 | <b>Espécies Reativas de Oxigênio</b> | <b>Espécies Reativas de Nitrogênio</b> |
|-----------------|--------------------------------------|----------------------------------------|
| Radicalares     | Alcoxila                             | Óxido Nítrico                          |
|                 | Hidroxila                            | Peroxinitritos                         |
|                 | Peroxila                             | Nitritos                               |
|                 | Superóxido                           | Nitratos                               |
| Não Radicalares | Ácido Hipocloroso                    | Ácido Peroxinitroso                    |
|                 | Hipoclorito                          | Ácido Nitroso                          |
|                 | Oxigênio Singlete                    | Óxido Nitroso                          |
|                 | Ozônio                               |                                        |
|                 | Peróxido de Hidrogênio               |                                        |

O organismo humano possui sistemas naturais, enzimáticos e não enzimáticos, de eliminação de radicais livres ou de impedimento de sua transformação em produtos mais tóxicos para as células. As defesas enzimáticas incluem: Superóxido Dismutase, Glutathione Peroxidase, Catalase e Metionina-Redutase. Os antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria, são obtidos por fontes exógenas naturais ou sintéticas. Os principais podem ser divididos em: compostos lipossolúveis (Betacaroteno, Vitaminas A e E), compostos hidrossolúveis (Vitaminas C e do Complexo B, Glutathione), oligoelementos (Zinco, Cobre, Selênio, Magnésio, Manganês), hormônios (estrógenos), derivados de plantas (terpenos, polifenóis), entre outros. Em condições fisiológicas normais e através de obtenção por alimentação apropriada, existe um equilíbrio entre as atividades e os níveis intracelulares desses antioxidantes [15,31].

Os compostos antioxidantes também podem ser classificados com base em seu mecanismo de ação contra a espécies reativas de oxigênio (EROs) como antioxidantes primários e secundários. Os antioxidantes primários são aqueles que quebram a reação em cadeia da oxidação por doação de hidrogênio e a geração de radicais mais estáveis. Os antioxidantes secundários retardam a taxa de oxidação por vários mecanismos, incluindo a quelação de metais, regeneração de antioxidantes primários, decomposição de hidroperóxidos e eliminação de oxigênio, entre outros [14,16].

Em condições fisiológicas normais, as células preferem estar no estado redox, e sua oscilação determina as funções celulares. A maioria dos tipos de células provoca uma pequena explosão oxidativa gerando baixa concentração de EROs e ERNs quando estimuladas por citocinas, algumas interleucinas, TNF- $\alpha$ , angiotensina II ou diversos tipos de fatores de crescimento. Portanto, a iniciação e a função da transdução de sinal dependem da ação de EROs e ERNs como moléculas de

sinalização, desempenhando um papel fisiológico importante como mensageiros secundários [22].

O equilíbrio delicado entre o estresse oxidativo e a defesa antioxidante é mantido pelo corpo humano para uma saúde ótima. Se o excesso de EROs e ERNs não puderem ser neutralizadas adequadamente pela defesa antioxidante do corpo, é gerado o estresse oxidativo, que está associado à muitas doenças, incluindo doenças cardiovasculares, vários tipos de câncer, diabetes e doenças neurodegenerativas [22].

As evidências experimentais demonstram o envolvimento do estresse oxidativo no desenvolvimento do dano do nervo periférico. O dano oxidativo aos neurônios periféricos pode causar lesões nas estruturas das mielinas, proteínas mitocondriais e enzimas antioxidantes [20,22].

Devido às características de segurança e tolerabilidade, diversas substâncias antioxidantes são testadas, em relação à sua eficácia, para a prevenção ou tratamento da NPIQ. Estes agentes apresentam neuroproteção significativa para a neurotoxicidade induzida por quimioterapia através de mecanismos que incluem: a diminuição do estresse oxidativo celular (eliminação de radicais livres e aumento indireto das concentrações sanguíneas de enzimas antioxidantes), normalização das funções mitocondriais e diminuição da produção de mediadores pró-inflamatórios [6,20,21]. A utilização dos compostos antioxidantes, neste contexto, visa diminuir a neurotoxicidade associada aos agentes antineoplásicos, fornecendo proteção para o tecido saudável sem comprometer a eficácia antitumoral [5,16].

### **2.3 Modelos Experimentais na Pesquisa da NPIQ**

Segundo Ferreira e colaboradores, modelos experimentais em pesquisa podem ser definidos como “a materialização de uma parte da realidade, por meio da representação simples de uma ocorrência recente ou antiga”. Entre os modelos experimentais descritos na literatura, os mais utilizados são as culturas de células e tecidos (pesquisa *in vitro*), o uso de animais de laboratório (pesquisa *in vivo*) e os estudos anatômicos, geralmente em cadáveres de seres humanos [32].

O desenvolvimento de modelos experimentais torna-se importante na medida em que permitem o melhor conhecimento da fisiopatologia das doenças, da ação de medicamentos ou dos efeitos de determinadas intervenções. Isto posto, inferimos que os modelos animais podem ser utilizados em todos os campos da pesquisa

biológica. Entretanto, devem ser desenvolvidos de forma mais semelhante possível à condição que se objetiva estudar para que os resultados possam ser comparados aos fenômenos humanos [32,33].

Assim como ocorre com outros tipos de neuropatias periféricas, o uso de modelos experimentais é comum para o estudo da NPIQ [5,34]. Normalmente, são desenvolvidos modelos animais que tentam reproduzir as características essenciais da NPIQ e que apresentem medidas de resultado relevantes para a patogenia da doença [34]. Ensaios comportamentais são utilizados para avaliar as respostas sensoriais, alodinia, hiperalgesia e coordenação sensório-motora [35]. Neste grupo, os testes mais utilizados são: Von Frey, placa quente, teste da Acetona, imersão da cauda e Rota-rod.

Há também uma série de métodos eletrofisiológicos que podem ser usados para avaliar a NPIQ. Os métodos utilizados para a realização de testes eletrofisiológicos em modelos animais são baseados nos utilizados na prática clínica. Os estudos de condução nervosa fornecem uma medida de amplitude e latência da resposta evocada, que pode então ser usada para calcular a velocidade de condução do impulso tanto em nervos motores quanto sensoriais [5,35]. Além disto, alguns testes eletrofisiológicos avaliam a integridade de fibras mielinizadas e são úteis no caso de drogas que provoquem desmielinização ou degeneração de axônios [34,35].

As análises histopatológicas são utilizadas na avaliação do grau de degeneração axonal ou alterações no corpo celular neuronal. Para tanto, são utilizadas seções de tecido coradas com métodos imunohistoquímicos ou com métodos mais simples de coloração para análise estrutural [35]. É importante ressaltar que as avaliações histológicas precisam ser realizadas utilizando métodos estereológicos (amostras sistematizadas, uniformes e aleatórias). Muitas vezes, os pesquisadores realizam suas análises sem método de amostragem aleatória cega.

Nos últimos anos, o foco vem sendo direcionado para o uso de testes e medidas de resultado que possam ser reproduzíveis em ensaios clínicos e que possibilitem a realização de análises quantitativas [24,34]. Um exemplo desta prática é a avaliação da inervação epidérmica através de biópsia cutânea simples, que pode ser realizada tanto em animais quanto em seres humanos e apresenta grande utilidade no diagnóstico das neuropatias periféricas. Além disto, é considerado um teste de simples realização, pouco invasivo e que pode ser repetido no mesmo

paciente para avaliar progressão da neuropatia e possíveis respostas terapêuticas [34,36].

Para indução da NPIQ em modelo animal, é utilizada grande parte dos medicamentos antineoplásicos que causam neuropatia periférica em pacientes com câncer (Cisplatina, Oxaliplatina, Paclitaxel e Vincristina) [6,35]. No entanto, algumas variáveis metodológicas não padronizadas podem resultar em possíveis fragilidades quando são analisados os resultados. Há pouca consistência nas características dos animais utilizados, como espécies, idade e pesos diferentes. Outra situação comum é caracterizada pelas discrepâncias de dosagem, modo de administração e duração do protocolo de indução.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Realizar uma revisão da literatura sobre o uso de substâncias antioxidantes para o tratamento de neuropatia periférica induzida por quimioterapia, em modelos experimentais.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Investigar quais substâncias antioxidantes vem sendo utilizadas no tratamento pré-clínico da Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia;
- ✓ Pesquisar os modelos experimentais aplicados no tratamento da Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia com substâncias antioxidantes.

## 4 ARTIGO CIENTÍFICO

### The Use of Antioxidant Agents for Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy Treatment in Animal Models

Larissa Feitosa Carvalho<sup>1</sup>; Ana Maria Fantini Silva<sup>1</sup>; Adriana Andrade Carvalho<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Sergipe, Department of Medicine, Post Graduation Program in Health Sciences, CEP 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil

<sup>2</sup>Federal University of Sergipe, Department of Pharmacy, Campus Lagarto, CEP 49400-000, Lagarto, Sergipe, Brazil

#### 4.1 Introduction

The Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN) is the most common side effect caused by the antineoplastic treatment. Some drugs such as Cisplatin, Oxaliplatin, Paclitaxel and Vincristin are widely used in the treatment for several both solid and blood tumours. However, the severity of peripheral neuropathy caused by these agents can affect the patient's quality of life and may result in chemotherapy dose reductions and even early discontinuation [1,2]. Nearly, 38% of patients treated with multiple agents have some degree of CIPN, and the gravity of the effects depends on individual factors, cumulative dose, duration of exposure, drug chemical structure of antineoplastic agent and combination therapies. CIPN major symptoms involve: sensory loss, paresthesia, dysesthesia, numbness, tingling, temperature sensitivity, allodynia and hyperalgesia, in a "stocking and glove" distribution [1-4].

The explanation to many different chemotherapeutic agents resulting in similar neuropathy profiles it is still unclear. However, the effects of pro-inflammatory cytokines – IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  – on neuronal tissues such as peripheral sensory neurons are regarded as a potential cause of CIPN. Some studies also suggest anatomical and/or functional changes of nerve fibres and involvement of glial cells. Damage of some intracellular organelles such as mitochondria may also contribute to the neurotoxicity caused by chemotherapy [1].

Unfortunately, there is not a gold-standard treatment for CIPN. Many drug classes (i.e antidepressants, anticonvulsant, antispastic agents and others) have

been used in clinical practice, but there is no scientific evidence to prove their effectiveness [2]. Antioxidant agents have shown a protective effect against free radical damage, what can be the cause of many diseases. In order to find out a successful treatment for CIPN, animal studies (since pharmacological and mechanical tests until histopathological and immunohistochemical analyses) have been developed to try to determinate the action of antioxidant agents [3, 5-22].

This systematic review provides an overview of the major antioxidant agents recently investigated to treat CIPN, as well as the animal models used for this purpose. The search identified 815 files. In total 786 files were excluded for duplicity or lack of relevance after title and abstract analysis. We assessed the eligibility of the 26 resulting files after full reading. At last, 25 articles were included in the study.

## **4.2 Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy – Mechanisms of Formation**

### **4.2.1 Cisplatin**

Cisplatin-based chemotherapy is used for the treatment of several solid tumours, such as colorectal, ovarian, testicular, bladder, oesophagus, stomach and lung cancer. It is a representative drug in the platinum class, which has been used for four decades. The neurotoxicity induced by this drug is characterized by a dose-dependent painful or non-painful sensory neuropathy, mechanical and cold allodynia and ataxia. The range of neuropathy is between 24% and 92% of the patients and 20% of them are forced to stop treatment. Nevertheless, the mechanisms of Cisplatin-induced (CISPLA) peripheral neuropathy are still unclear [5,9].

Some studies have suggested indirect effects on the sodium channel function. Those may also be involved in the injury and death of sensory neurons, affecting large myelinated sensory nerve fibres signalling apoptosis. Another possibility involves the effects of CISPLA on the mitochondrial function through the action of reactive oxygen species (ROS). Several mechanisms including hypoxia, inflammation, lipid peroxidation and apoptosis induced by free radicals are thought to be involved. In the spinal cord, CISPLA produces long-term elevation of the cytokine IL-1 $\beta$  located in astroglia cells [5,9,10,14,20].

### **4.2.2 Oxaliplatin**

Oxaliplatin (OXALI) is a third-generation organoplatinum agent used in combination with other antineoplastic drugs, such as 5-fluorouracil and leucovorin, in

the treatment of gastrointestinal tract cancer, colorectal liver metastasis, ovarian cancer and non-small cell lung cancer. OXALI has a better safe profile than do Cisplatin and Carboplatin for auditory, hematologic and renal systems. However, it causes severe acute and chronic peripheral neuropathies, found in 85-95% of all patients exposed to OXALI. Acute neuropathy occurs within hours of injection and is characterized by acral paresthesias enhanced by exposure to cold; it also sensitizes C-fibre afferents producing long-lasting hyperalgesia. Those symptoms are probably caused by the impairment of cellular voltage-gated potassium channels. The acute effects can also be caused by Oxalate (metabolite agent of OXALI) involved in a chelation of extracellular calcium producing an increase in sodium concentration resulting in an increase in the amplitude and duration of action potentials on neuron membranes and synapses [3,7,11, 24].

Joseph et al demonstrated that the acute painful peripheral neuropathy can be also induced by the action of OXALI on IB4-positive nociceptors. Another possible explanation for acute symptoms is that OXALI activates the Fos expression in dorsal horn neurons. Fos is a protein found low under basal conditions in neuronal nuclei, but only changes in afferent inputs or changes in external stimuli resulting in phenotypic reprogramming of the cell. The other metabolite, Platinum (Pt), causes the chronic neuropathy, observed in 10-15% of patients after cumulative injections of OXALI and characterized by sensory and motor neuropathy. Chronic neuropathy is caused by morphological changes of Pt-DNA, such as damage of cell bodies, nucleus and nucleolus, atrophy in neurons of the dorsal root ganglia and cell death [16, 23, 24].

Oxidative stress has also been suggested to be the direct cause of neurotoxicity, probably yielded by the formation of ROS, but its full mechanism is still insufficient. Kim et al demonstrated that sciatic nerves of animals treated with OXALI showed axonal degeneration and decreased density of myelinated fibres. Another hypothesis for OXALI-induced peripheral neuropathy include the impairment of cellular mitochondrial oxygen consumption, lipid peroxidation and glutamate release [16-24].

#### 4.2.3 Paclitaxel

Paclitaxel (PACLI) is a taxane-derived antineoplastic, used as a first-line treatment for solid tumours such as breast cancer and ovarian cancer. The main

adverse effect of PACLI is a chronic peripheral neuropathy, predominantly sensory, that occurs in a “stocking and glove distribution”. These symptoms continue for months or years even after treatment ends. As with all drugs cited until now, the mechanism of PACLI neuropathy is complex and poorly understood. Animal models showed signs of cold, heat and mechanical hypersensitivity. PACLI contributes to ROS formation (superoxide, hydroxyl radical, nitric oxide and hydrogen peroxide) through changes in neuronal mitochondria (swollen and vacuolated) that are involved in nerve injury-induced and inflammatory pain through TRPA1 channels [3,13]. The administration of PACLI also results in the production of interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) and other proinflammatory cytokines and their release from microglia cells [25].

PACLI-treated mice subjected to the capsaicin test showed the involvement of TRPV1 channels in heat hyperalgesia. Mast cells adjacent to the sensory nerves release histamine upon activation, initiating the release of substance P which is potentiated by sensitization of TRPV1 channels. Some studies suggested that mechanical hypersensitivity and heat hyperalgesia are induced by different nerve fibres. The first one may be mediated through large-diameter afferent A- $\delta$  fibres and the second one is mediated through small-diameter unmyelinated C-fibres [3,13, 26].

#### 4.2.4 Vincristin

Vincristin (VINCRI) is one of the most common antineoplastic agents used to treat several types of cancer (i.e leukaemia, lymphomas and sarcomas). VINCRI possesses neurotoxicity as anticancer action and painful peripheral neuropathy is the main dose-limiting side effect, characterized by disturbance of both sensory and motor functions. The symptoms include mild tingling, spontaneous painful burning paresthesia and hyperalgesia. The mechanism through which VINCRI produces CIPN are still unclear, but it is known that VINCRI-induced neuropathic pain is due to neuronal toxicity and/or neurological disorder [6,8,12].

Abad et al showed that VINCRI promotes inflammatory reactions in peripheral tissues and changes in spinal cord affecting A-fibres. Pain behaviour due to VINCRI may also be associated with dysfunction and increase in the discharge of C-fibres, but there is not much evidence [6]. VINCRI also modulates calcium channels, generation of free radicals (calpain and calmodulin) and displayed functional loss, oxidative stress (generation of ROS) and increased TNF- $\alpha$  and IL-6 in sciatic nerve. Jain et al investigated the histopathological changes in spleen, which revealed an

increase in white pulp area and gives a suggestion of inflammation as one of the important reasons behind VINCRI-induced peripheral neuropathy [8,15].

Figure 1 summarizes the molecular actions that cause peripheral nerve damage induced by antineoplastic agents.

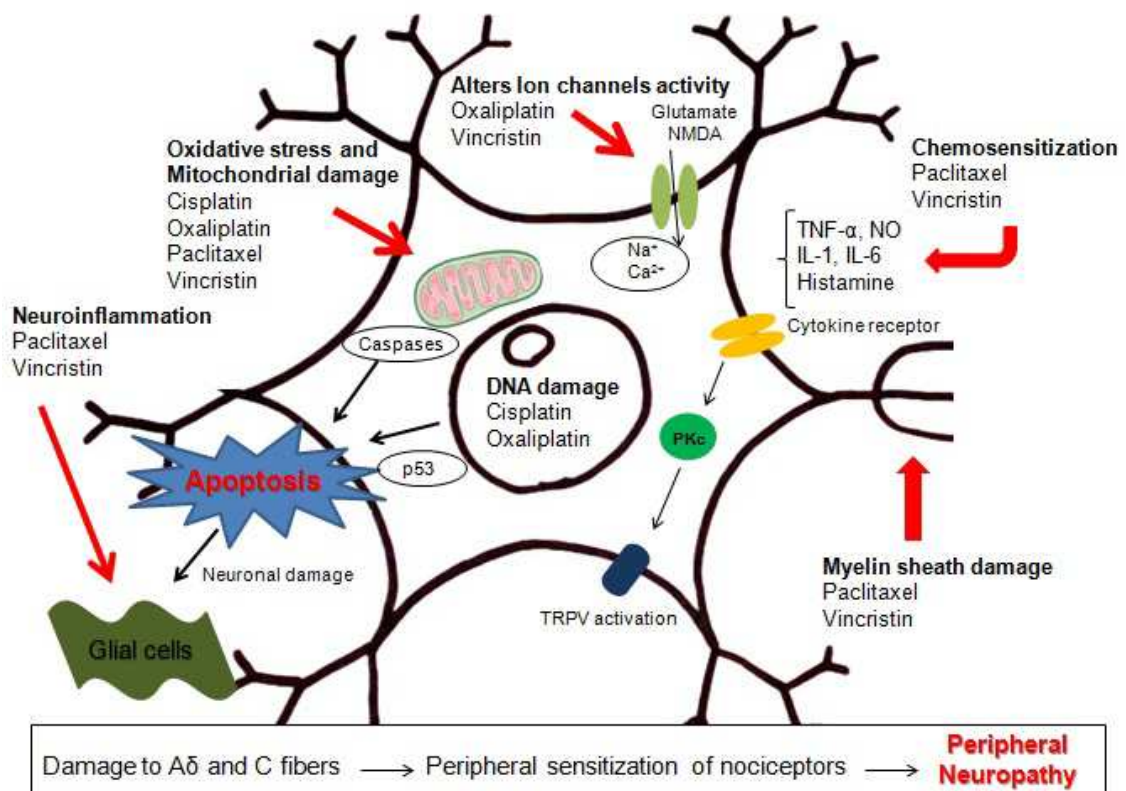


Figure 1. The molecular actions of antineoplastic agents that cause peripheral nerve damage. Mitochondrial dysfunction occurs due to the opening of the transition pore of mitochondrial permeability, formation of oedema and vacuolization, which causes activation of caspases, thus leading the neuronal cell to apoptosis. Cisplatin and Oxaliplatin also can affect both mitochondrial and neuronal DNA, leading to apoptosis. These changes stimulate microglial cells, which release proinflammatory mediators and growth factors into the damaged areas. Other proinflammatory mediators are also capable of damaging the myelin sheath. Oxaliplatin also alters Na<sup>+</sup> channel conductance through Ca<sup>2+</sup> chelation. These antineoplastic agents are also reported to cause peripheral sensitization through up regulation of N-methyl D-aspartate (NMDA) receptors, potentially transducin vanilloid channels (TRPV) and protein kinase C (PKC).

#### 4.3 Antioxidant Agents and Applied Methodology

Several antioxidant compounds have been tested for CIPN treatment. That occurs because antioxidants had shown amelioration of the neurotoxicity by reducing oxidative stress. Many of these substances are derived from medicinal herbs. For example, *Matricaria chamomilla* (MC) is an herb that is rich in glycosides and

flavonoids, and is used for sedation, pain management, antispasmodic, anti-inflammatory and antipyretic properties, wound healing and antioxidant agent in traditional medicine. Their hydroalcoholic extract could decrease pain responses of Cisplatin-induced peripheral neuropathy in both phases of Formalin test, indicating that the MC extract could have central nervous system and peripheral effects. In comparison with Morphine, MC extract has more anti-inflammatory effects in the second phase, but fewer analgesic effects in the first phase [5].

Another study used the *Salvia officinalis* (SO), also rich in flavonoids, which presented antioxidant and anti-inflammatory properties. The effects of SO hydroalcoholic extract showed a decrease in Vincristin-induced peripheral neuropathy pain in the second phase of the Formalin test, presenting better results in comparison with Morphine [6].

The fruit extract of *Momordica charantia* L (MC) also demonstrated positive responses on Vincristin-induced peripheral neuropathy in terms of behavioural, biochemical, histopathological and antinociception evaluations. The administration of standardized fruit powder of MC produced antinociceptive action over injury-induced neuropathic pain in rodents via PPAR $\gamma$  agonistic activity, TNF- $\alpha$  and IL-6 inhibition (superior to Gabapentin), iNOS and nNOS inhibiting property, anti-inflammatory and antioxidant potential [15].

Lee and co-workers used Green Tea extracts, which contain polyphenol catechins (galliccatechin, epigallocatechin, epicatechin and epigallocatechin-3-gallate) and present the ability to prevent chemotherapy-induced toxicities. After the assessment of Sensory Thresholds, Tail-Flick test, Electrophysiology and Tunel method, they seem to have a temporary effect on neurotoxicity, but did not prevent morphometric and electrophysiological alterations induced by Oxaliplatin. Green Tea extracts may be a useful adjuvant to alleviate sensory symptoms in the early stage of Oxaliplatin-induced PN [18]. Goshajinkigan (GJG), a blend compound with 10 Japanese traditional medicinal herbs, has been used to treat symptoms such as numbness, vibration, cold sensation and limb pain associated with diabetic neuropathy. Sometime later, GJG showed a decrease in Oxaliplatin-induced neuropathy but without protection against axonal degeneration in sciatic nerves. Acetone and Von Frey tests showed that GJG reduced cold hyperalgesia and mechanical allodynia [22].

Lately, there is a growing interest in the medicinal potential of phytochemicals. Scientific evidence has indicated that flavonoids have anti-inflammatory, analgesic and antioxidants effects. Some studies with Rutin and Quercetin on Oxaliplatin-induced peripheral neuropathy demonstrated that lipid peroxidation and tyrosine nitrosylation and hepatotoxicity were prevented with the flavonoid treatment through Von Frey test, histopathological analysis, immunohistochemistry analyses and myeloperoxidase activity [7,21]. Quercetin also ameliorates Paclitaxel-induced neuropathic pain by stabilizing mast cells. Heat hyperalgesia and mechanical allodynia were evaluated by Gao et al. Spinal cords and dorsal root ganglia tissues were harvested for analyzing PKC $\epsilon$  and TRPV1 expression levels. The plasma histamine levels also were assessed [26].

Nariginin, which presents many biological properties such as antiradical agent, antilipid peroxidation, anti-inflammatory and antimutagenic effects, should be used as part of a therapeutic regimen to prevent against Cisplatin-induced peripheral neuropathy and cognitive deficits. The results were obtained from behavioural tests and biochemical analysis of the hippocampus [10]. A *Silybum marianum*-derived flavonoid, Silibinin, exhibits antihyperalgesic activity, protective effects in hepatic diseases and in neurodegenerative disorders; it's also inhibits the overproduction of ROS and prevents oxidative modification of low-density lipoproteins. Silibinin was able to reduce Oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in rodents, through Von Frey test, cold plate test, rota-rod test, tissue processing, TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances), carbonylated protein evaluation and DNA oxidation [19].

Curcumin, a polyphenolic non-flavonoid compound isolated from the traditional herb *Curcuma longa*, is a common oriental spice used to manage various disorders over thousands of years. Curcumin has been reported as a strong antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antidepressant and neuroprotective agent. Besides, it presents antinociceptive effects in different animal models of pain, including diabetic neuropathic pain and CIPN. These results may also be attributed to Tetrahydrocurcumin that is one more bioavailable and potent metabolite of Curcumin. The analyses involved behavioural tests, biochemical estimation, formalin test, determination of sciatic functional index and neurophysiological study [8,12,20].

Resveratrol is a polyphenol found in grapes and red wine, commercially available as a safe dietary supplement, and it has been reported to have antineoplastic activities. Resveratrol has also been shown to prevent the formation of

free radicals inhibiting the lipid peroxidation, and to have anti-inflammatory properties. It is also a neuroprotective agent against excitotoxicity. The combination of these activities is useful to protect against Cisplatin-induced peripheral neuropathy, and is what has been tested through behavioural studies, electrophysiology and biochemical estimation; it also protects against Oxaliplatin-induced neuropathic pain, that has been tested through Von Frey test, immunohistochemistry analyses and myeloperoxidase activity [9,21].

The isoflavone Rotenone (mitochondrial complex I inhibitor) and Antimycin A (mitochondrial complex III inhibitor) were tested by Griffiths and Flatters, through Von Frey and rota-rod tests, for pharmacological modulation of mitochondrial ROS-producing sites and thus to produce antinociceptive effects on Paclitaxel-induced neuropathy. However, only the complex III activity inhibition showed positive results [13]. Ferulic Acid (a phenolic phytochemical commonly found in fruits and vegetables) and Matrine (an alkaloid found in plants from the *Sophora* genus) were able to reduce the signs of Vincristin-induced peripheral neuropathy. The results were found through behavioural, electrophysiological, biochemical and histopathological analyzes [27, 28].

Antioxidant agents from several sources presenting positive effects against CIPN symptoms have been studied, such as Coenzyme Q10 (CoQ10), which is an oil-soluble, vitamin-like substance present in the mitochondria. It has shown protective effects against neuronal loss in animal models of neurodegeneration, regenerating other antioxidants, stimulating cell growth and inhibiting cell death. Alpha-lipoic is a natural dithiol compound also synthesized in the mitochondria. It reacts with ROS, decreases lipid peroxidation and generate a neuroprotective role. Monosodium Glutamate is the sodium salt of Glutamic Acid and contributes as an important role in the biosynthesis of several key amino acids. Glutamate is involved in the modulation of microtubules, that affect the intracellular transport, exerting an indirect effect on these after interacting with a receptor found only in neural cells, acting as neuroprotectant. Through behavioural studies, electrophysiology and biochemical estimation, the combination of these substances demonstrated protection against Cisplatin-induced neurotoxicity [9].

Mangafodipir, a quelate of Manganese and Vitamin B6 derivative ligand Fodipir, can protect a variety of cells from oxidative stress and act upon voltage-gated potassium channels. It has been shown to be able to prevent Oxaliplatin-

induced neuropathy, through rota-rod, Von Frey test, cold plate, electrophysiology and morphological study of sciatic nerve sections [11]. MnL4 (polyamine-polycarboxylate-Mn<sup>II</sup> complex 4,10-dimethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,7-diacetic acid Mn<sup>II</sup>) is a small lipophilic molecule that is able to enter cells easily. It contains the Mn (II) ion, which determines a potent mimetic activity of superoxide dismutase enzymes (SOD) capable of reducing ROS toxicity. Slow and continuous administration of MnL4 in animals treated with Oxaliplatin improved the neuropathic symptoms compared to the group receiving only the antineoplastic agent. The animals were evaluated using the paw pressure, Von Frey, cold plate and rota-rod tests [23].

The 3-[4-(3-trifluoromethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one (LPP1) is an efficacious antiallodynic, antihyperalgesic and analgesic compound. In combination with Pregabalin, LPP1 was shown to very effectively decrease tactile allodynia in Oxaliplatin and Paclitaxel neuropathic pain, through cold water test, mechanical stimulation, hot plate test, rota-rod test and capsaicin test [3]. Phosphatidylcholine (PC), a major constituent of cell membranes, has antioxidant and anti-inflammatory effects and prevents lipidic peroxidation. Kim et al evaluated the protective effect of PC by recording the thermal nociception in Oxaliplatin-induced peripheral neuropathy and found positive results that may be attributed to a neuroprotective properties [17].

Three classic antioxidant agents, Acetyl-L-Carnitine,  $\alpha$ -Lipoic Acid and Vitamin C were studied by Joseph et al. They produced significant attenuation of acute hyperalgesia induced by Oxaliplatin, according to behavioural tests and immunohistochemistry [16]. However, Vitamin C and Sodium Bicarbonate did not show superior results when compared to the treatment with Morphine or Ibuprofen in Cisplatin-induced peripheral neuropathy, through Von Frey test and acetone test [14].  $\alpha$ -Lipoic Acid as also been studied by Kahng and co-workers for treatment of Vincristin-induced peripheral neuropathy. It was able to reduce mechanical and cold allodynia using Von Frey and Acetone tests [29].

Carvedilol is an antihypertensive drug that also presents antioxidant and mitoprotective properties. Areti and co-workers shown that co-treatment with Carvedilol exhibited free radical scavenging activity against Oxaliplatin-induced oxidative stress in neuronal cells, reducing the levels of nitrotyrosine and improving

the mitochondrial superoxide dismutase expression in both sciatic nerve and dorsal root ganglia tissues [24].

Table 1 summarizes all antioxidant agents that were used and tests that were applied in each study.

#### **4.4 Conclusion**

In an attempt to obtain an effective treatment for CIPN, the use of animal models has been fundamental to provide the survey archetype reproducible. As many drugs can cause CIPN, studies must take into account the particularities of the symptoms caused by each of them. Furthermore, it is increasingly necessary to understand the formation's mechanisms of peripheral neuropathy on what the treatment targets are better defined. With an increasing amount of substances being studied, especially antioxidant agents, and the development of accurate techniques and tests, it is expected that soon the CIPN will be a treatable medical condition, with defined protocols, and postponement or interruption of antineoplastic treatment will no longer be necessary.

**Conflict of Interests:** none.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Table 1

Antioxidant agents and methodology applied in animal models

| Antineoplastic | Reference                       | Substances                                                               | Tests                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cisplatin      | Abad et al. (2011) <sub>a</sub> | <i>Matricaria chamomilla</i><br>flower alchoholic extract                | Formalin test                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                | Bhadri et al. (2013)            | Monosodium Glutamate<br>Resveratrol<br>Alpha-lipoic Acid<br>Coenzyme Q10 | Tail immersion (50°C)<br>Grip strength meter<br>Rota-rod<br>Isolation of sciatic nerve<br>Measurement of nerve conduction velocity<br>Biochemical estimation (sciatic nerve homogenate preparation, TBARS, reduced glutathione, catalase)                                                                                                                                                      |
|                | Chtourou et al. (2015)          | Naringin                                                                 | Open field<br>Elevated plus maze<br>Biochemical analysis of the Hippocampus (TBARS, protein carbonyl, hydroperoxide assay, reduced glutathione, acid ascorbic, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, nitric oxide, nitric oxide synthase, ROS, acetylcholinesterase, Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>+</sup> , ATPase, protein quantification) |
|                | Guindon et al. (2014)           | Vitamin C<br>Sodium Bicarbonate<br>Resveratrol                           | Von Frey<br>Acetone test<br>Measurement of creatinine, ketone and glucose levels<br>Quantification of lumbar spinal cord and kidneys mRNA                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                | Moundhri et al. (2013)          | Curcumin                                                                 | Locomotor and behavioural activity<br>Rota-rod<br>Cold water tail-flick test                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

|             |                                      |                                                      |                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|             |                                      |                                                      | Tail-flick test<br>Paw pressure test<br>Histological evaluation of sciatic nerve<br>Biochemical measurements (neurotensin, platinum)                                                                                      |
| Oxaliplatin | Areti, Komirishetty and Kumar (2017) | Carvedilol                                           | Nerve conduction velocity<br>Eddy's cold plate<br>Acetone test<br>Von Frey<br>Estimation of oxidative/nitrosative stress markers<br>Assessment of mitochondrial functions<br>Immunohistochemical analysis                 |
|             | Azevedo et al. (2013)                | Rutin<br>Quercetin                                   | Von Frey<br>Tail immersion (10°C)<br>Histopathological analysis and immunohistochemistry of lumbar spinal cord<br>Histopathological analysis and immunohistochemistry of hind paw skin<br>TBARS                           |
|             | Coriat et al. (2014)                 | Mangafodipir                                         | Rota-rod<br>Cold plate<br>Von Frey<br>Electrical stimulation<br>Morphological study of sciatic nerve<br>Oxidative stress in the serum                                                                                     |
|             | Joseph et al. (2008)                 | Acetyl-L-carnitine<br>Alpha-lipoic Acid<br>Vitamin C | Randall-Selitto test<br>Von Frey<br>Heat stimulation (Hargreaves method)<br>Tail immersion (5°C, 10°C, 15°C)<br>Rota-rod<br>Immunohistochemistry of spinal cord segments<br>Single-fibre <i>in vivo</i> electrophysiology |

|                        |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kim et al. (2015)      | Phosphatidylcholine                                                                                                                       | Paw pressure test<br>Hot plate<br>Tail flick test<br>Histopathological and immunohistochemical evaluations of sciatic nerve and lumbar spinal cord<br>Biochemical measurements (lipid peroxidation, total glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase) |
| Lee et al. (2012)      | Greent tea extracts                                                                                                                       | Von Frey<br>Tail-flick test<br>Electrical stimulation<br>TUNEL method                                                                                                                                                                                                |
| Mannelli et al. (2012) | Silibinin                                                                                                                                 | Paw pressure test<br>Von Frey<br>Cold plate<br>Rota-rod<br>TBARS<br>Carbonylated protein evaluation<br>DNA oxidation                                                                                                                                                 |
| Mannelli et al. (2016) | polyamine-polycarboxylate-Mn <sup>II</sup> complex 4,10-dimethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,7-diacetic acid Mn <sup>II</sup> (MnL4) | Paw pressure test<br>Von Frey<br>Cold plate<br>Rota-rod                                                                                                                                                                                                              |
| Moundhri et al. (2013) | Curcumin                                                                                                                                  | Locomotor and behavioural activity<br>Rota-rod<br>Cold water tail-flick test<br>Tail-flick test<br>Paw pressure test<br>Histological evaluation of sciatic nerve<br>Biochemical measurements (neurotensin, platinum)                                                 |
| Salat et al. (2014)    | 3-[4-(3-trifluoromethylphenyl)-                                                                                                           | Cold water test<br>Von Frey                                                                                                                                                                                                                                          |

|            |                                 |                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            |                                 | piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one (LPP1)                                | Hot plate                                                                                                                                                                                                                            |
|            | Schwingel et al. (2014)         | Resveratrol<br>Rutin<br>Quercetin<br>Quercetin nanoemulsion              | Von Frey<br>Histopathological analysis of lumbar spinal cord<br>Immunohistochemistry for c-Fos and caspase-3<br>Measurement of myeloperoxidase activity<br>Serum analysis of aspartate-aminotransferase and alanine-aminotransferase |
|            | Ushio et al. (2011)             | Goshajinkigan                                                            | Acetone test<br>Von Frey<br>Histopathological analysis of sciatic nerve                                                                                                                                                              |
| Paclitaxel | Gao et al. (2016)               | Quercetin                                                                | Hot water tail-flick test<br>Von Frey<br>Estimation of the plasma histamine level<br>Western blot<br>Immunohistochemistry                                                                                                            |
|            | Griffiths and Flatters (2015)   | Rotenone<br>Antimycin A                                                  | Von Frey<br>Rota-rod                                                                                                                                                                                                                 |
|            | Salat et al. (2014)             | 3-[4-(3-trifluoromethylphenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one (LPP1) | Rota-rod<br>Locomotor and behavioural activity<br>Capsaicin test<br>Allyl isothiocyanate-induced pain                                                                                                                                |
| Vincristin | Abad et al. (2011) <sub>b</sub> | Salvia officinalis leaf alcoholic extract                                | Formalin test                                                                                                                                                                                                                        |
|            | Babu et al. (2014)              | Curcumin                                                                 | Hot plate<br>Cold plate<br>Pin prick test<br>Rota-rod<br>Determination of sciatic functional index<br>Formalin                                                                                                                       |

|                        |                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                        |                                          | Biochemical estimation (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, reduced glutathione, LPO levels, nitric oxide, total protein content, total calcium)                                                                                                                                                                                                     |
| Greeshma et al. (2015) | Tetrahydrocurcumin                       | Hot plate<br>Cold plate<br>Randall-Selitto test<br>Rota-rod<br>Determination of sciatic functional index<br>Formalin test<br>Neurophysiological study<br>Biochemical estimation (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, reduced glutathione, LPO levels, nitric oxide, total protein content, total calcium, TNF-alpha)                                 |
| Gong et al. (2016)     | Matrine                                  | Von Frey<br>Cold plate<br>Hot plate<br>Paw pressure<br>Rota-rod<br>Sciatic functional index<br>Sensory nerve conduction velocity<br>Sensory nerve action potential<br>Biochemical estimation (malondialdehyde, total antioxidant capacity, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, total calcium, myeloperoxidase)<br>Histopathological Evaluation<br>Western blot |
| Jain et al. (2015)     | <i>Momordica charantia</i> fruit extract | Acetone test<br>Pin prick test<br>Hot plate<br>Paint-brush test<br>Walking track test<br>Measurement of spleen white pulp                                                                                                                                                                                                                                                |

|                                   |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                   |                   | Histopathological evaluation of sciatic nerve<br>Biochemical estimation (protein content, TBARS, reduced glutathione, cytokines level, myeloperoxidase activity, nitrite, mitochondria isolation and mitochondrial complex estimation)                                                                                                                 |
| Kahng et al. (2015)               | Alpha-lipoic Acid | Von Frey<br>Acetone test                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Vashistha, Sharma and Jain (2016) | Ferulic Acid      | Pin prick test<br>Hot plate<br>Acetone test<br>Paint-brush test<br>Biochemical estimation (total protein content, TBARS, reduced glutathione, MPO activity, total calcium, cytokines level)<br>Determination of motor nerve conduction velocity<br>Determination of sensory nerve conduction velocity<br>Histopathological evaluation of sciatic nerve |

## 4.5 References

- [1] Carozzi VA, Canta A, Chiorazzi A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms?. *Neuroscience Letters* 2015; 596: 90-107
- [2] Hershman DL, Lacchetti C, Dworkin RH, Smith EML et al. Prevention and Management of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Survivors of Adult Cancers: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* 2014; 32: 1941-67
- [3] Salat K, Cios A, Wyska E, Salat R et al. Antiallodynic and antihyperalgesic activity of 3-[4-(3-trifluoromethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one compared to pregabalin in chemotherapy-induced neuropathic pain in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2014; 122: 173-181
- [4] Vichaya EG, Chiu GS, Krukowski K, Lacourt TE et al. Mechanisms of chemotherapy-induced behavioural toxicities. *Front Neurosci* 2015; 9: 131
- [5] Abad ANA, Nouri MHK, Gharjanie A, Tavakoli F. Effect of *Matricaria chamomilla* Hydroalcoholic Extract on Cisplatin-induced Neuropathy in Mice. *Chin J Nat Med* 2011; 9(2): 126-131
- [6] Abad ANA, Nouri MHK, Tavakoli F. Effect of *Salvia officinalis* Hydroalcoholic Extract on Vincristin-induced Neuropathy in Mice. *Chin J Nat Med* 2011; 9(5): 354-8
- [7] Azevedo MA, Pereira AF, Nogueira RB, Rolim FE et al. The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Molecular Pain* 2013; 9: 53-66
- [8] Babu A, Prasanth KG, Balaji B. Effect of curcumin in mice model of vincristine-induced neuropathy. *Pharm Biol* 2014; Early Online: 1-11
- [9] Bhadri N, Sanji T, Guggilla HM, Razdan R. Amelioration of Behavioural, Biochemical, and Neurophysiological Deficits by Combination of Monosodium Glutamate with Resveratrol/Alpha-Lipoic Acid/Coenzyme Q10 in Rat Model of Cisplatin-Induced Peripheral Neuropathy. *The Scientific World Journal* 2013;
- [10] Chtourou Y, Gargouri B, Kebieche M, Fetoui H. Naringin Abrogates Cisplatin-Induced Cognitive Deficits and Cholinergic Dysfunction Through the Down-Regulation of AChE Expression and iNOS Signaling Pathways in Hippocampus of Aged Rats. *J Mol Neurosci* 2015; 56: 349-362
- [11] Coriat R, Alexandre J, Nicco C, Quinquis L et al. Treatment of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy by intravenous mangafodipir. *J Clin Invest* 2014; 124(1): 262-272
- [12] Greeshma N, Prasanth KG, Balaji B. Tetrahydrocurcumin exerts protective effect on vincristine induced neuropathy: Behavioural, biochemical, neurophysiological and histological evidence. *Chemico-Biological Interactions* 2015; 238: 118-128

- [13] Griffiths LA, Flatters SJL. Pharmacological Modulation of the Mitochondrial Electron Transport Chain in Paclitaxel-Induced Painful Peripheral Neuropathy. *The Journal of Pain* 2015; 16(10): 981-994
- [14] Guindon J, Deng L, Fan B, Wager-Miller J et al. Optimization of a cisplatin model of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in mice: use of vitamin C and sodium bicarbonate pretreatments to reduce nephrotoxicity and improve animal health status. *Molecular Pain* 2014; 10: 56-69
- [15] Jain V, Pareek A, Ratan Y, Singh N. Standardized fruit extract of *Momordica charantia* L protect against vincristine induced neuropathic pain in rats by modulating GABAergic action, antimitotoxic, NOS inhibition, anti-inflammatory and antioxidative activity. *South African Journal of Botany* 2015; 97: 123-132
- [16] Joseph EK, Chen X, Bogen O, Levine JD. Oxaliplatin Acts on IB4-Positive Nociceptors to Induce an Oxidative Stress-Dependent Acute Painful Peripheral Neuropathy. *J Pain* 2008; 9(5): 463-472
- [17] Kim ST, Chung YH, Lee HS, Chun SJ et al. Protective effects of phosphatidylcholine on oxaliplatin-induced neuropathy in rats. *Life Sciences* 2015; 130: 81-7
- [18] Lee JS, Kim YT, Jeon EK, Won HS et al. Effect of green tea extracts on oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012; 12: 124-32
- [19] Mannelli LDC, Zanardelli M, Failli P, Ghelardini C. Oxaliplatin-Induced Neuropathy: Oxidative Stress as Pathological Mechanism. Protective Effect of Silibinin. *J Pain* 2012; 13(3): 276-84
- [20] Al Moundhri MS, Al-Salam S, Al Mahrouqee A, Beegam S et al. The Effect of Curcumin on Oxaliplatin and Cisplatin Neurotoxicity in Rats: Some Behavioural, Biochemical, and Histopathological Studies. *J Med Toxicol* 2013; 9: 25-33
- [21] Schwingel TE, Klein CP, Nicoletti NF, Dora CL et al. Effects of the compounds resveratrol, rutin, quercetin, and quercetin nanoemulsion on oxaliplatin-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2014; 387: 837-48
- [22] Ushio S, Egashira N, Sada H, Kawashiri T et al. Goshajinkigan reduces oxaliplatin-induced peripheral neuropathy without affecting anti-tumour efficacy in rodents. *European Journal of Cancer* 2012; 48: 1407-13
- [23] Mannelli LC, Zannardelli M, Landini I, Pacini A et al. Effect of the SOD mimetic MnL4 on in vitro and in vivo oxaliplatin toxicity: Possible aid in chemotherapy induced neuropathy. *Free Radical Biology & Medicine* 2016; 93: 67-76
- [24] Areti A, Komirishetty P, Kumar A. Carvedilol prevents functional deficits in peripheral nerve mitochondria of rats with oxaliplatin-evoked painful peripheral neuropathy. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2017; 322: 97-103

- [25] Kuyrukluıldız U et al. The Effect of Anakinra on Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathic Pain in Rats. *Turk J Anaesthesiol Reanim* 2016; 44: 287-94
- [26] Gao W et al. Quercetin ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain by stabilizing mast cells, and subsequently blocking PKC $\epsilon$ -dependent activation of TRPV1. *Acta Pharmacologica Sinica* 2016; 37: 1166–1177
- [27] Gong SS et al. Neuroprotective Effect of Matrine in Mouse Model of Vincristin-Induced Neuropathic Pain. *Neurochem Res* 2016; 41 (11): 3147-3159
- [28] Vashistha B, Sharma A and Jain V. Ameliorative potential of ferulic acid in vincristine-induced painful neuropathy in rats: An evidence of behavioural and biochemical examination. *Nutritional Neuroscience* 2016; 60-70
- [29] Kahng J et al. The effect of thioctic acid on allodynia in a rat vincristine induced neuropathy model. *Journal of International Medical Research* 2015; 43(3): 350–355

## 5 CONCLUSÃO

Por se tratar de uma condição clínica que não possui tratamento específico, os estudos que avaliam alternativas de tratamento para a Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia apresentam relevância científica significativa. Atrelado às características de segurança e tolerabilidade, o uso de substâncias antioxidantes para a prevenção ou tratamento da NPIQ configura-se como uma estratégia interessante, já que estes agentes apresentam atividade neuroprotetora comprovada através de diversos mecanismos, fornecendo proteção para os tecidos saudáveis, aparentemente, sem comprometer a eficácia antitumoral do tratamento antineoplásico.

## 6 PERSPECTIVAS FUTURAS

A utilização direcionada de compostos antioxidantes, através de uma abordagem baseada em mecanismos farmacológicos e interação clínica, nos ajudará a elaborar novas estratégias terapêuticas de prevenção e tratamento da Neuropatia Periférica Induzida por Quimioterapia. Muitas substâncias promissoras, com possíveis efeitos sobre a NPIQ foram identificadas nos últimos anos, porém, o conhecimento dos mecanismos de ação deve ser ampliado e há a necessidade de uma maior interação entre as metodologias desenvolvidas para os estudos experimentais e os estudos clínicos. A realização de ensaios clínicos é necessária para validar resultados encontrados nos estudos experimentais, que dependem de sintomas clínicos ou achados de exames em pacientes.

Espera-se que não apenas os mecanismos de ação dos compostos antioxidantes sejam descritos, como também as interações destes com os agentes antineoplásicos devem ser investigadas e analisadas em profundidade. Visto que a NPIQ apresenta vários mecanismos possíveis de degeneração neuronal, uma combinação de substâncias pode ser uma oportunidade promissora de prevenção e tratamento, com foco em múltiplos alvos de degeneração ou ativação da regeneração neuronal.

Além disso, quando analisadas as metodologias empregadas em estudos pré-clínicos com animais na NPIQ, algumas fragilidades metodológicas surgem. Seria interessante que os estudos apresentassem metodologia padronizada, com dosagem padrão quando utilizado o mesmo agente antineoplásico e mesmo período de tempo de indução e tratamento. Também seria interessante considerar a possibilidade de definição de uma melhor combinação de medidas de resultado, entre os diversos tipos de análises que podem ser realizadas (comportamentais, eletrofisiológicas, histopatológicas, quantificação de estresse oxidativo e de fatores desencadeadores de neuroinflamação, entre outras). Por fim, entendemos que a preocupação com a utilização de testes que possam ser reprodutíveis em ensaios clínicos deveria ser constante. Um dos principais desafios relacionados aos testes utilizados atualmente é a comprovação da eficácia para avaliação das disestesias e parestesias dolorosas espontâneas, que são queixas frequentes dos pacientes submetidos a tratamento quimioterápico.

## REFERÊNCIAS

- [1] Stöppler MC. Neuropathy [Internet]. New York: eMedicine Health; 2016 [cited 2017 Jul 8]. Available from: [http://www.emedicinehealth.com/neuropathy/article\\_em.htm](http://www.emedicinehealth.com/neuropathy/article_em.htm)
- [2] Jain KK. Central Neuropathic Pain [Internet]. San Diego: MedLink Corporation; 2017 [cited 2017 Jul 8]. Available from: [http://www.medlink.com/article/central\\_neuropathic\\_pain](http://www.medlink.com/article/central_neuropathic_pain)
- [3] Shelat AM. Autonomic Neuropathy [Internet]. Bethesda: ADAM Health Solutions; 2016 [cited 2017 Jul 8]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000776.htm>
- [4] Peripheral Neuropathy Information Page [Internet]. Bethesda: NIH Neurological Institute; 2017 [cited 2017 Jul 8]. Available from: <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/All-Disorders/Peripheral-Neuropathy-Information-Page>
- [5] Hilkens PHE, Van den Bent MJ. Chemotherapy-induced Peripheral Neuropathy. *Journal of Peripheral Nervous System* 1997; 2: 350-361.
- [6] Carozzi VA, Canta A, Chiorazzi A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms?. *Neuroscience Letters* 2015; 596: 90-107.
- [7] Hershman DL et al. Prevention and Management of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Survivors of Adult Cancers: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* 2014; 32: 1941-1967.
- [8] Seretny M et al. Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain* 2014; 155: 2461-2470.
- [9] Salat K et al. Antiallodynic and antihyperalgesic activity of 3-[4-(3-trifluoromethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one compared to pregabalin in chemotherapy-induced neuropathic pain in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2014; 122: 173-181.
- [10] Vichaya EG et al. Mechanisms of chemotherapy-induced behavioral toxicities. *Front Neurosci* 2015; 9: 131.
- [11] Wolf S, Barton D, Qin REA. The relationship between numbness, tingling and shooting/burning pain in patients with chemotherapy-induced peripheral neuropathy as measures by EORTC QLQ-CIPN20 instrument, N06CA. *Support Care Cancer* 2012; 20: 625-632.
- [12] Kremer M et al. Antidepressants and Gabapentinoids in Neuropathic Pain: Mechanistic Insights. *Neuroscience* 2016; 338: 183-206.
- [13] Sies H. Oxidative Stress [Internet] London: Academic Press Inc; 1985 [cited 2017 Jul 9]. 4 p. Available from: <https://books.google.com.br/books?hl=en&lr>

=&id=BEoXBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=oxidative+stress&ots=hj0ebOkAZG&sig=K4Gz5rCfdO0DoGLosWxyJUQz7ek#v=onepage&q=oxidative%20stress&f=false

[14] Losada-Barreiro S, Bravo-Díaz C. Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2017; 133: 379-402.

[15] Halliwell B, Aeschbach R, Löloger J, Aruoma OI. The Characterization of Antioxidants. *Food and Chemical Toxicology* 1995; 33(7): 601-617.

[16] Beijers AJM, Jongen JLM, Vreugdenhil G. Chemotherapy-induced neurotoxicity: the value of neuroprotective strategies. *The Netherlands Journal of Medicine* 2012; 70(1): 18-25.

[17] Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* 2002; 249: 9–17.

[18] GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016; 388(10053): 1659-1724.

[19] Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2015. 25 p.

[20] Areti A et al. Oxidative stress and nerve damage: Role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Redox Biology* 2014; 2: 289-295.

[21] Boyette-Davis JA, Walters ET, Dougherty PM. Mechanisms involved in the development of chemotherapy-induced neuropathy. *Pain Manag*. 2015; 5(4): 285-296.

[22] Dasgupta A, Klein K. Introduction to Free Radicals and the Body's Antioxidant Defense. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements* 2014; 1-18.

[23] Li J et al. Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. *Int. J. Mol. Sci*. 2013; 14: 24438-24475.

[24] Han Y, Smith MT. Pathobiology of cancer chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). *Frontiers in Pharmacology* 2013; 4: 1-16.

[25] Topp KS, Tanner KD, Levine JD. Damage to the Cytoskeleton of Large Diameter Sensory Neurons and Myelinated Axons in Vincristine-Induced Painful Peripheral Neuropathy in the Rat. *The Journal of Comparative Neurology* 2000; 424: 563–576.

[26] Abaira VE, Ginty DD. The Sensory Neurons of Touch. *Neuron* 2013; 79: 618-639.

- [27] Hunt SP, Rossi J. Peptide- and Non-Peptide-Containing Unmyelinated Primary Afferents: The Parallel Processing of Nociceptive Information. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 1985; 308: 283-289.
- [28] Zhang H, Dougherty PM. Enhanced Excitability of Primary Sensory Neurons and Altered Gene Expression of Neuronal Ion Channels in Dorsal Root Ganglion in Paclitaxel-induced Peripheral Neuropathy. *Anesthesiology* 2014; 120: 1463-1475.
- [29] Smith EML et al. Effect of duloxetine on pain, function, and quality of life among patients with chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy: a randomized clinical Trial. *JAMA*. 2013; 309(13): 1359–1367.
- [30] Costa TC et al. Neuropatia periférica induzida pela quimioterapia: revisão integrativa da literatura. *Revista da Escola de Enfermagem da USP* 2014; 49(2): 335-345.
- [31] Valko M et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007; 39: 44–84.
- [32] Ferreira LM, Hochman B, Barbosa MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2005; 20(2): 28-34.
- [33] Pound P et al. Where is the evidence that animal research benefits humans? *BMJ* 2004; 328: 514-517.
- [34] Höke A. Animal Models of Peripheral Neuropathies. *Neurotherapeutics* 2012; 9: 262–269.
- [35] Höke A, Ray M. Rodent Models of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *ILAR Journal* 2014; 54(3): 273-281.
- [36] Moura L et al. Padronização normal das fibras nervosas intraepidérmicas em 30 voluntários saudáveis com PGP 9,5. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62(2-A): 271-275.

## APÊNDICE

### METODOLOGIA

Foi realizada uma busca nas bases de dados SCOPUS, PUBMED e SCIENCE DIRECT, nos meses de Fevereiro e Março de 2016, com os seguintes descritores: *antioxidant AND (prevention OR treatment) AND neuropathy AND chemotherapy*. O período da busca abrangeu os trabalhos publicados a partir do ano de 2006.

Foram excluídos os artigos escritos em língua diferente do Português, Inglês ou Espanhol e os artigos repetidos. De um total de 805 trabalhos, após análise de título e *abstract*, foram selecionados 20 e, após leitura completa, foram utilizados 19 artigos para elaboração da revisão.

Em Janeiro de 2017, foi realizada uma atualização da busca, com acréscimo de 1 artigo. Uma segunda atualização foi realizada em Maio de 2017 e foram acrescentados 5 trabalhos, totalizando 25 artigos na versão final da revisão.

## ANEXO

Carta de Aceite - Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.

Dear Dr. Carvalho,

Ms id: CEPP-17-0042.R1

Ms title: The use of antioxidant agents for chemotherapy-induced peripheral neuropathy treatment in animal models

We are delighted to confirm that your manuscript is now suitable for publication in Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.

Your manuscript will be published online as an 'accepted article' within the next few days. Please respond immediately if you do not want your manuscript to be published as an accepted article.

Your paper will be produced by our professional production editors and you can expect to receive page proofs of your manuscript in one to three months. You will first be contacted by the copy editor with some initial questions and then the typesetter, Scientific Publishing Services Limited (SPS), will send you proofs. We would appreciate it if you could respond promptly on both occasions.

Proofs will be sent as an Acrobat PDF (portable document format) file. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof.

Your article cannot be published until you have signed the appropriate license agreement. Within the next few days you will receive an email from Wiley's Author Services system which will ask you to log in and will present you with the appropriate licence for completion.

If you believe that your images (either in your paper or prepared separately) may be appropriate for use on the cover of Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, please email the Production Editor (Edmar Mendoza at [CEPPproduction@wiley.com](mailto:CEPPproduction@wiley.com)) with your suggestions and images (600 dpi for line art and 300 dpi for color image). Please note that there is a charge to compensate the production cost and the Editor-in-Chief will provide the final approval. There is no

guarantee that your images will be chosen. A payment form will be forwarded to you by the Production Editor.

We would like to take this opportunity to invite you to submit names of your associates who might be interested in purchasing reprints of your article or any company that might be interested in having an advertisement in the same issue in which your article will appear. Please forward this information to Sophie Price at [sprice@wiley.com](mailto:sprice@wiley.com) so that our Corporate Sales team can follow up with them.

Thank you for submitting your paper to CEPP.

Yours sincerely,

Prof. Jun-Ping Liu

Editor-in-Chief, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology