



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**JONAS COSTA DE FRANÇA**

**ESTUDO DA DISFUNÇÃO MOTORA ASSOCIADA À NEUROTOXICIDADE DA  
OXALIPLATINA EM CAMUNDONGOS**

**FORTALEZA**

**2022**

**JONAS COSTA DE FRANÇA**

**ESTUDO DA DISFUNÇÃO MOTORA ASSOCIADA À  
NEUROTOXICIDADE DA OXALIPLATINA EM  
CAMUNDONGOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharelado em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Lima Vale.

**FORTALEZA**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

F881e França, Jonas.  
ESTUDO DA DISFUNÇÃO MOTORA ASSOCIADA À NEUROTOXICIDADE DA OXALIPLATINA  
EM CAMUNDONGOS / Jonas França. – 2022.  
73 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,  
Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Mariana Lima Vale.

1. Oxaliplatina. 2. Neurotoxicidade. 3. Disfunções motoras. I. Título.

CDD 615

---

**JONAS COSTA DE FRANÇA**

**ESTUDO DA DISFUNÇÃO MOTORA ASSOCIADA À  
NEUROTOXICIDADE DA OXALIPLATINA EM  
CAMUNDONGOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharelado em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Lima Vale.

Aprovada em: 30/ 11/ 2022.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Mariana Lima Vale (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Me. Bruno Wesley de Freitas Alves  
Faculdade Rodolfo Teófilo

---

Prof. Me. Francisco Rafael Alves Santana Cesário  
Faculdade Estácio Via Corpvs

**FORTALEZA**

**2022**

## AGRADECIMENTOS

Essa pesquisa é sobre muitas coisas, e viver cada momento com pessoas incríveis está entre elas. Então, deixo aqui algumas palavras de gratidão a muita gente que trilhou esse caminho comigo com muito incentivo, admiração e gratidão.

Aos meus pais e à minha irmã, por nunca medirem esforços para me proporcionar tudo o que precisei para que meu sonho de ser farmacêutico fosse alcançado. Um agradecimento também a tia Flor e a minha madrinha pelas palavras de incentivo e pelo apoio necessário durante essa jornada.

À minha Profa. orientadora Mariana Vale, pelos ensinamentos científicos; pela confiança e por me acolher no LAFICA e tornar tudo possível, e também por me proporcionar tranquilidade, leveza e inspiração pelo seu estilo de vida.

Ao Rafael Santana, por também me orientar desde o início e durante toda a minha iniciação científica; pelos conhecimentos compartilhados e também por acreditar no meu potencial; por tornar essa pesquisa possível. Uma pessoa que admiro muito, principalmente pela resiliência e pela honestidade.

À Anamaria Falcão, ao Bruno Freitas, ao Mário Lisboa, À Cristiane Maria e mais recentemente à Renata Rocha por ter tido a oportunidade de participar dos seus projetos de pesquisa; pelos momentos de descontração e pela energia maravilhosa compartilhada. Grandes pesquisadores que fazem parte do LAFICA e que tive o privilégio de ter como professor da disciplina de farmacologia, destaco o prof. Roberto César e a profa. Deysi Wong.

Às farmacêuticas Janiele, Rachel e Jéssica do hospital Gastroclínica por toda a orientação e pelos conhecimentos repassados; por me incentivar, através dos elogios e do reconhecimento, e pelos sorrisos compartilhados. Agradeço também aos farmacêuticos Gian, Elmo e Tatiana que participaram da minha seleção de estágio, obrigado por acreditarem no meu potencial. Sou grato também pelos momentos de descontração proporcionados pelos meus colegas de trabalho: Bruna, Louranny, Sueila e Félix. Espero que a gente se reencontre nesse futuro de possibilidades.

Aos amigos que tive a sorte de encontrar durante a graduação: Amanda, Lara, Hugo, Gabs, Octávio, Luana e Liviane. Sou grato por ter me aproximado de vocês!! Vocês tornaram o curso menos pesado e agradeço também pelo reforço positivo, além do apoio e dos conselhos nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos que me acompanharam desde o ensino fundamental até o exato momento: Leticia Vivian, Rayane, Maria e Wilkens. Gratidão pelos nossos encontros aleatórios e pelas conversas sobre a vida, a verdade e o universo. Um agradecimento muito especial ao Lennon por me acompanhar bem de perto nesse último semestre da graduação; pelos momentos felizes, pela atenção, pelos conselhos também e por me ajudar a manter o equilíbrio quando mais precisei. Sou eternamente grato a todos vocês.

E para finalizar, à Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade.

“Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo, é um imenso prazer para mim dividir um planeta e uma época com você.”

– Carl Sagan.

## RESUMO

A oxaliplatina (OXL) é um agente antineoplásico considerada como primeira linha de tratamento do câncer colorretal metastático, contudo apresenta como efeito dose-limitante a neurotoxicidade, caracterizada por alterações sensoriais, déficits cognitivos e disfunções motoras. Tais efeitos prejudicam tanto a qualidade de vida do paciente bem como a eficácia do tratamento. Enquanto que os sintomas sensitivos são bastante explorados na pesquisa científica, ainda há poucos estudos e baixo interesse nas pesquisas acerca do comprometimento motor induzido pela OXL, além da deficiência de modelos animais eficazes que possibilitam a avaliação das disfunções motoras. Nessa perspectiva, este estudo tem como objetivo avaliar as disfunções motoras causadas pela neurotoxicidade da OXL em camundongos com neuropatia periférica. A neuropatia periférica foi induzida nos camundongos swiss machos a partir da administração da OXL na dose de 2mg/Kg, o qual foi administrada 2x/semana por 4,5 semanas, totalizando 9 aplicações. Durante a indução da neuropatia periférica, foram realizados semanalmente do dia 1 ao dia 28 o teste de campo aberto para determinar a atividade exploratória do animal, o teste da barra de equilíbrio para avaliar o equilíbrio, a avaliação da marcha para determinar o índice funcional do nervo ciático (IFC) e o teste da força de apreensão e do tempo de suspensão para avaliar a força e a resistência muscular. Após o dia 28, foi realizada a coleta dos nervos ciáticos para a avaliação histopatológica e foi coletada também a medula para a avaliação do estresse oxidativo pela determinação da Glutathiona Reduzida (GSH) e do Malondialdeído (MDA). Referente aos resultados encontrados, a partir do dia 14, a OXL reduziu tanto a atividade exploratória no teste de campo aberto como o IFC na avaliação da marcha, apesar de não ter afetado o equilíbrio dos animais no teste da barra de equilíbrio. A partir do dia 7, foi observada uma redução da força e da resistência muscular dos animais tratados com a OXL. Referente à análise histológica do nervo ciático, a OXL aumentou o infiltrado leucocitário, a presença de vacúolos, a degeneração axonal e edema, corroborando com a disfunção do ciático encontrada na avaliação da marcha. Dentre os mecanismos envolvidos nas alterações motoras pode-se inferir que pode ser provocado pela própria lesão nos nervos periféricos e que essas lesões podem decorrer do desequilíbrio da atividade antioxidante/oxidante. Conclui-se que as disfunções/comprometimento motor podem ser provocadas pela neurotoxicidade causada pela oxaliplatina.

**Palavras-chave:** Oxaliplatina; Neuropatia; Disfunção motora

## ABSTRACT

Oxaliplatin (OXL) is an antineoplastic agent considered the first line of treatment for metastatic colorectal cancer, however, it has neurotoxicity as a dose-limiting effect, characterized by sensory changes, cognitive deficits and motor dysfunctions. Such effects prejudice both the patient's quality of life and the effectiveness of treatment. Although sensory symptoms are widely explored in scientific research, there are still few studies and little interest in research on OXL-induced motor impairment. In addition to the lack of effective animal models that allow the assessment of motor dysfunctions. In this perspective, this study aims to evaluate the motor dysfunctions caused by the neurotoxicity of OXL in mice with peripheral neuropathy. Peripheral neuropathy was induced in male Swiss mice from the administration of OXL at a dose of 2mg/kg, which was administered twice a week for 4.5 weeks, totaling 9 applications. During the induction of peripheral neuropathy, the open field test was performed weekly from day 1 to day 28 to determine the animal's exploratory activity, the balance beam test to assess balance, gait assessment to determine the animal's sciatic functional index (SFI). and the apprehension strength and suspension time test to assess muscle strength and endurance. After day 28, sciatic nerves were collected for histopathological evaluation and the spinal cord was also collected for evaluation of oxidative stress by determination of Reduced Glutathione (GSH) and Malondialdehyde (MDA). Regarding the results found, from day 14, OXL reduced both exploratory activity in the open field test and SFI in the gait assessment, despite not having affected the balance of the animals in the balance bar test. From the 7th day onwards, a reduction in muscle strength and endurance was observed in the animals treated with OXL. Regarding the histological analysis of the sciatic nerve, OXL increased the leukocyte infiltrate, the presence of vacuoles, axonal degeneration and edema, corroborating the sciatic dysfunction found in the gait assessment. Among the mechanisms involved in these motor changes, oxidative stress can be highlighted, as it was demonstrated that OXL caused an increase in MDA and a decrease in GSH both in the sciatic nerve and in the spinal cord. Therefore, it can be concluded that the neurotoxicity caused by OXL was responsible for causing a motor impairment in the animals treated with this chemotherapy.

**Keywords:** Oxaliplatin; Neuropathy; Motor dysfunction

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Incidência do câncer colorretal no Brasil em 2020.....	18
Figura 2	– Metabólitos reativos da reação da oxaliplatina.....	19
Figura 3	– Mecanismo de alquilação da oxaliplatina.....	20
Figura 4	– Mecanismo imunogênico da oxaliplatina.....	21
Figura 5	– Sensibilização e ativação dos TRPA1 causada pela oxaliplatina.....	26
Figura 6	– Ativação dos TRPM8 pela oxaliplatina via NFAT.....	27
Figura 7	– Estresse oxidativo, mitotoxicidade e ativação da via apoptótica causada pela oxaliplatina.....	28
Figura 8	– Desenho experimental.....	36
Figura 9	– Análise dos parâmetros no ImageJ.....	38
Figura 10	– Registro da marcha dos camundongos.....	47
Figura 11	– Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Controle (HE, 200x).....	50
Figura 12	– Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Controle (HE, 400x).....	51
Figura 13	– Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Oxaliplatina (HE, 200x).....	52
Figura 14	– Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Oxaliplatina (HE, 400x).....	52

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Efeito da oxaliplatina sobre o número de cruzamentos no teste do campo aberto.....	43
Gráfico 2	– Efeito da oxaliplatina sobre o número de levantamentos no teste do campo aberto.....	43
Gráfico 3	– Efeito da oxaliplatina sobre o tempo de imobilidade no teste do campo aberto.....	44
Gráfico 4	– Efeito da oxaliplatina sobre o tempo de mobilidade no teste do campo aberto.....	44
Gráfico 5	– Efeito da oxaliplatina sobre o índice funcional do nervo ciático no teste de registro da marcha.....	45
Gráfico 6	– Efeito da oxaliplatina sobre o índice funcional do nervo ciático no teste de registro da marcha.....	46
Gráfico 7	– Efeito da oxaliplatina sobre o ângulo entre as passadas no teste de registro da marcha.....	46
Gráfico 8	– Efeito da oxaliplatina sobre o equilíbrio dos camundongos submetidos à neuropatia periférica.....	48
Gráfico 9	– Efeito da oxaliplatina sobre a força de contração dos camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	49
Gráfico 10	– Efeito da oxaliplatina sobre a força isométrica dos camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	49
Gráfico 11	– Níveis de glutatona reduzida na medula de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	53
Gráfico 12	– Níveis de glutatona reduzida no nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	53
Gráfico 13	– Níveis de malondialdeído no ensaio TBARS na medula de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	54
Gráfico 14	– Níveis de malondialdeído no ensaio TBARS no nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
APCs	Célula apresentadora de antígenos
ASCO	Sociedade Americana de Oncologia Clínica
cm	Centímetro
CMAP	Potencial de ação muscular composto
CTR	Transportador de cobre
DACH	Diaminociclohexano
DAMPs	Padrões moleculares associados à danos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRG	Gânglios da raiz dorsal
EPM	Erro padrão da média
FOLFIRI	Leucovorin, irinotecano
FOLFOX	5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatina
FOLFOXIRI	5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatina, irinotecano
FU	Fluorouracil
g	Gramas
GRD	Gânglio da raiz dorsal
GSH	Glutathiona reduzida
HCN	Canal ativado por hiperpolarização
INCA	Instituto Nacional do Câncer
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IROX	Irinotecano, oxaliplatina
ip.	Intraperitoneal
iv.	Intravenosa
KCNK	Canal de potássio, subfamília K
Kg	Quilograma
LAFICA	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer
KIM-1	Molécula de lesão renal-1
LV	Leucovorin
M	Molar
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MPZ	Proteína zero da mielina
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro

MDA	Ácido malondialdeído
MUNE	Número estimado de unidades motoras
Nav	Canal de sódio dependente de voltagem
NFAT	Fator nuclear de células T ativadas
NRG1	Neuregulina 1
NPOI	Neuropatia periférica induzida por oxaliplatina
NSP	Neuropatia sensitiva periférica
OCT	Transportador de cátion orgânico
PHD	Prolil hidroxilase
RNA <sub>m</sub>	RNA mensageiro
TRPs	Canal potencial receptor transiente
TRPA1	Canal de potencial do receptor transitório, subfamília A, membro 1
TRPC6	Canal de potencial do receptor transitório, subfamília C, membro 6
TRPM8	Canal de potencial do receptor transitório, subfamília M, membro 8
TRPV1	Canal de potencial do receptor transitório, subfamília V, membro 1
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
OCTN	Transportador de carnitina/cátion orgânico
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXL	Oxaliplatina
PBS	Solução salina tamponada
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PD1	Proteína de morte celular programada 1
PDL2	Ligante 2 da proteína de morte celular programada 1
PFA	Paraformaldeído
pH	Potencial hidrogeniônico
pt	Platina
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SOD	Superóxido dismutase
TNF	Fator de necrose tumoral
TLR4	Receptor do tipo Toll 4
TRAAK	Membro 4 da subfamília de canais de potássio de dois poros
TREK1	Membro 1 da subfamília de canais de potássio de dois poros
TRPA1	Receptor potencial transitório Ankyrin 1
TRPM8	Receptor potencial transitório melastatina 8
TRPV1	Receptor potencial transitório vaniloide 1
UFC	Universidade Federal do Ceará
°C	Grau Celsius
µm	Micrômetro
%	Porcentagem
®	Marca registrada

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	Oxaliplatina.....	18
2.2	Neurotoxicidade associada à oxaliplatina.....	22
2.2.1	Neuropatia sensitiva periférica.....	23
2.2.2	Disfunção motora associada à neurotoxicidade.....	29
3	JUSTIFICATIVA.....	31
4	OBJETIVOS.....	34
4.1	Objetivo Geral.....	34
4.2	Objetivos Específicos.....	34
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
5.1	Considerações éticas.....	35
5.2	Animais.....	35
5.3	Drogas.....	35
5.4	Local do estudo.....	35
5.5	Desenho experimental.....	36
5.6	Neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....	37
5.7	Testes comportamentais.....	37
5.7.1	Teste de campo aberto.....	37
5.7.2	Registro da marcha.....	37
5.7.3	Teste da barra de equilíbrio.....	39
5.8	Teste da atividade motora.....	40
5.8.1	Teste da força de apreensão.....	40
5.8.2	Teste do tempo de suspensão.....	40
5.9	Protocolo de eutanásia.....	40
5.10	Coleta de tecidos para a análise histopatológica.....	40
5.11	Histopatologia dos Nervos Ciáticos.....	41
5.12	Coleta de tecidos para testes antioxidantes.....	41
5.13	Avaliação do estresse oxidativo.....	41
5.13.1	Determinação de Grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH).....	41
5.13.2	Determinação de Malondialdeído Ensaio TBARS).....	41
5.14	Análise estatística.....	42

<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>6.1</b>	<b>Efeito da oxaliplatina no desempenho motor de camundongos submetidos à neuropatia periférica no teste de campo aberto.....</b>	<b>42</b>
<b>6.2</b>	<b>Efeito da oxaliplatina no índice funcional do nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica no teste de registro da marcha.....</b>	<b>44</b>
<b>6.3</b>	<b>Efeito da oxaliplatina no equilíbrio de camundongos submetidos à neuropatia periférica no teste da barra de equilíbrio.....</b>	<b>47</b>
<b>6.4</b>	<b>Efeito da oxaliplatina na força e na resistência muscular de camundongos submetidos à neuropatia periférica nos teste de força de apreensão e do tempo de suspensão.....</b>	<b>48</b>
<b>6.5</b>	<b>Avaliação histopatológica dos nervos ciáticos de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.....</b>	<b>50</b>
<b>6.6</b>	<b>Efeitos da oxaliplatina no conteúdo de glutathiona (GSH) no nervo ciático e na medula de camundongos submetidos à neuropatia periférica.....</b>	<b>52</b>
<b>6.7</b>	<b>Efeitos da oxaliplatina sobre a peroxidação de lipídios (ensaio TBARS) na medula e no nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica.....</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Oxaliplatina é um antineoplásico pertencente à classe das platinas de terceira geração considerada como primeira linha no tratamento do câncer colorretal metastático, além de ser utilizada como adjuvante no tratamento do câncer colorretal, câncer de pâncreas, de estômago, de pulmão e dentre outros. Por ser um agente alquilante, os metabólitos desse quimioterápico formam ligações cruzadas inter e intrafilamentosas com estruturas nucleofílicas presentes no DNA e em proteínas, bloqueando o ciclo celular e ocasionando a apoptose das células neoplásicas. Apesar dos seus benefícios terapêuticos, a oxaliplatina ocasiona diversos efeitos adversos, como mielossupressão, nefrotoxicidade, ototoxicidade, distúrbios gastrointestinais e a neurotoxicidade. Dentre esses efeitos, a neurotoxicidade se manifesta como a mais desconfortante que prejudica a qualidade de vida dos pacientes, além de não apresentar ainda uma intervenção terapêutica capaz de reduzir ou de prevenir as manifestações clínicas dessa condição (SCAGLIOTTI, 2005; VALERIO, 2006; KIM, 2013).

Essa neurotoxicidade é resultante dos efeitos deletérios da oxaliplatina tanto nos gânglios da raiz dorsal dos neurônios sensoriais como também nos neurônios motores, ocasionando a neuropatia periférica. Essa neuropatia é manifestada por hipersensibilidade dolorosa ao frio (principalmente nas mãos, nos pés e na região perioral), formigamentos, dormências, parestesias, disestesias, perda de sensibilidade ao toque, às vibrações e ataxia sensorial, além das manifestações motoras e cognitivas. Apesar dos sintomas sensitivos causados pela oxaliplatina serem bem descritos na literatura, alguns estudos já evidenciaram o comprometimento motor no quadro clínico do paciente tratado com esse antineoplásico. Esses sintomas motores são graves e incapacitantes tanto quanto os sintomas sensitivos, o qual há relatos em que os pacientes se tornam até paraplégicos, devido à deficiência motora induzida pela oxaliplatina (LEONARD et al., 2004; GRIFFITH et al., 2017).

Apesar desse antineoplásico apresentar melhor eficácia no tratamento do câncer colorretal, além de prolongar a expectativa de vida desses pacientes em cerca de 20 meses, seus efeitos adversos, especificamente a neurotoxicidade, acaba prejudicando significativamente a qualidade de vida do paciente e, conseqüentemente, a eficácia antineoplásica, pois às vezes é necessário reduzir a dose, a frequência e o tempo de infusão da oxaliplatina ou mesmo interromper a quimioterapia por causa desses efeitos.

Apesar da escassez de estudos, foi observado na literatura um comprometimento motor considerável provocado pela oxaliplatina tanto em modelos pré-clínicos quanto clínicos.

Contudo ainda há poucos modelos animais ou técnicas capazes de avaliar efetivamente essas disfunções motoras, comparado aos estudos relativos aos danos sensitivos provocados pela oxaliplatina (AUTHIER, et al., 2009; BALAYSSAC, et al., 2015). Aliado a isso, devido ao baixo interesse em estudos que avaliam essas disfunções motoras, os mecanismos envolvidos nessas alterações motoras oriundas da neurotoxicidade desse quimioterápico ainda não foram elucidados e, portanto, a busca por agentes terapêuticos para essa condição são quase inexistentes. Diante disso, esse estudo tem como objetivo avaliar as disfunções motoras associadas à neurotoxicidade causada pela oxaliplatina em camundongos com neuropatia periférica..


## 2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

### 2.1 Oxaliplatina

A oxaliplatina é um quimioterápico antineoplásico derivada da 1,2-DACH (diaminociclohexano)-Pt (platino) de terceira geração utilizada como primeira linha de tratamento do câncer colorretal metastático e como adjuvante no tratamento do câncer de mama, de ovário, de pâncreas, de estômago e entre outros (SANOFI, 2003). A estrutura química da oxaliplatina se assemelha à da cisplatina, diferindo apenas na substituição dos grupos aminos por 1,2-diaminociclohexano, proporcionando dessa forma uma melhor eficácia antitumoral comparado à cisplatina e à carboplatina (FOLTINOVÁ, 2008).

A introdução da oxaliplatina nos esquemas quimioterápicos para o tratamento adjuvante do câncer colorretal e como 1ª linha do câncer colorretal metastático aumentou significativamente a sobrevida dos pacientes acometidos com esse tipo de neoplasia. Atualmente o câncer colorretal é considerado pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) o segundo mais incidente tanto em homens como em mulheres no Brasil e mundialmente é o segundo mais incidente em homens e o terceiro em mulheres (INCA, 2020).

Figura 1 – Incidência do câncer colorretal no Brasil em 2020.

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%			Mama feminina	66.280	29,7%
<b>Cólon e Reto</b>	<b>20.540</b>	<b>9,1%</b>	<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>	<b>Cólon e Reto</b>	<b>20.470</b>	<b>9,2%</b>
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.710	7,5%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6%
Cavidade Oral	11.200	5,0%			Glândula Tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema Nervoso Central	5.230	2,3%

Fonte: INCA, 2020.

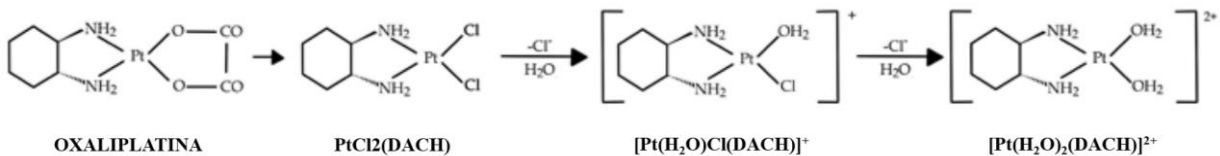
A oxaliplatina está incluída em diferentes esquemas terapêuticos para o tratamento oncológico, como FOLFOX/FLOX (5-fluorouracil, leucovorin e oxaliplatina), FOLFOXIRI (5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatina e irinotecano), XELOX (capecitabina e oxaliplatina), IROX (irinotecano e oxaliplatina) e FOLFOX associada à bevacizumabe. Quando associada à 5-FU e FA (FOLFOX), a oxaliplatina é administrada por via intravenosa na dose de 85 mg/m<sup>2</sup> uma vez a cada 2 semanas ou 130 mg / m<sup>2</sup> por via intravenosa uma vez a

cada 3 semanas (STEIN, ARNOLD, 2012; ABDEL-RAHMAN, 2014; CERCEK et al., 2018; PATHAK et al., 2018).

A eficácia da oxaliplatina é nitidamente observada através do aumento da expectativa de vida dos pacientes diagnosticados com câncer colorretal de 6 meses para cerca de 20 meses, quando associada à 5-fluorouracil e leucovorin. Além disso, a expectativa de vida dos pacientes com câncer colorretal metastático tende a aumentar de 16,7 para 22,6 meses ou de 25,8 para 29,8 meses quando a oxaliplatina é associada ao regime terapêutico com FOLFIRI (5-fluorouracil, leucovorin e irinotecano) ou FOLFIRI + bevacizumabe, respectivamente (GOLDBERG, 2004; CREMOLINI, 2015).

Após a sua administração, a oxaliplatina sofre uma reação não enzimática, em que o grupo oxalato é dissociado do antineoplásico na corrente sanguínea na presença do íon bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) ou do dihidrogênio de fosfato ou ácido fosfórico ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ), gerando, a partir disso, compostos intermediários instáveis que serão hidrolisados em metabólitos altamente reativos, como monoclouro, dicloro e diaquo 1,2-DACH-Pt, que irão reagir rapidamente com DNA e macromoléculas, como as proteínas (FOLTINOVÁ, 2008).

Figura 2 – Metabólitos reativos da reação da oxaliplatina.



Fonte: FOLTINOVÁ, 2008.

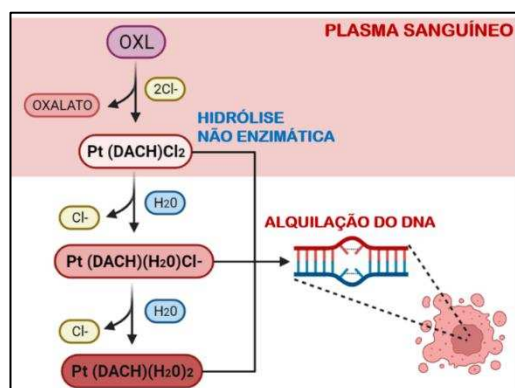
A oxaliplatina reage rapidamente na presença de íons  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , formando produtos eletrofílicos dicloro-, monoclouro- e diaquo- DACH-platino, respectivamente.

Referente à farmacocinética, a oxaliplatina, após a administração pela via intravenosa, liga-se rapidamente a mais de 90% das proteínas plasmáticas, considerando uma infusão de 2 horas de  $130\text{mg}/\text{m}^2$ , enquanto que a fração farmacologicamente ativa sofre reações não-enzimáticas no plasma descritas anteriormente, formando compostos intermediários platinos responsáveis pelo efeito antitumoral. Os metabólitos platinos são eliminados predominantemente pela via renal pelos quais 54% são eliminados em cinco dias após uma infusão única de 2 horas. Mesmo que a sua eliminação seja predominantemente renal, não é necessário ajustar a dose da oxaliplatina em casos de insuficiência renal leve ou moderada (CULY, 2000; FOLTINOVÁ, 2008).

O efeito antitumoral da oxaliplatina baseia-se na formação de ligações cruzadas

intra- e interfilamentosos entre os compostos intermediários platínicos altamente eletrofílicos com resíduos nucleofílicos presentes no DNA, como a posição N7 e O6 da guanina, e nas macromoléculas, como átomos de enxofre dos resíduos de cisteína e/ou metionina, resultando na inibição da síntese e do reparo do DNA bem como prejudicando as funções de enzimas, receptores e proteínas, induzindo a célula tumoral, em última instância, à apoptose (WOYNAROWSKI, 2000). Estudos apontam que a melhor eficácia antitumoral desse quimioterápico frente aos outros análogos da platina, como a cisplatina e a carboplatina, está associada ao maior volume da porção diaminociclohexano, promovendo, dessa forma, um perfil de distorção molecular bem diferente do promovido pelos outros análogos, o que garante que a oxaliplatina seja utilizada no tratamento de linhagens tumorais resistentes à cisplatina (ALCINDOR, 2011; SOULIÉ, 1997).

Figura 3 – Mecanismo de alquilação da oxaliplatina.



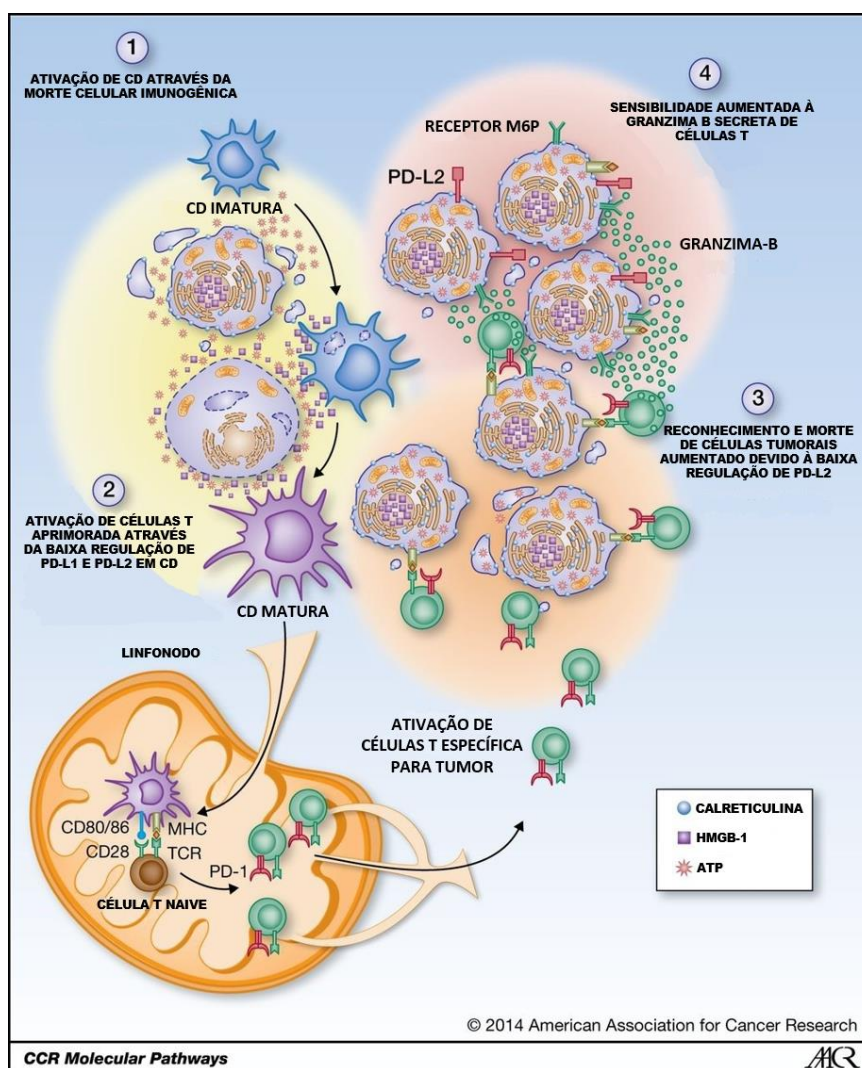
Fonte: Autoria própria.

A oxaliplatina, após alcançar a circulação sanguínea, gera produtos eletrofílicos que irão interagir com o DNA ou macromoléculas, formando ligações cruzadas inter e intrafilamentosas e, conseqüentemente, bloqueando a proliferação da célula neoplásica e induzindo a sua apoptose.

Além desse mecanismo convencional, estudos indicam que a oxaliplatina seja capaz de induzir a morte celular imunogênica pelo qual é responsável por aumentar a ativação e o recrutamento de células T citotóxicas, importantes na destruição das células tumorais sobreviventes aos efeitos convencionais da oxaliplatina. Esse mecanismo imunogênico baseia-se na liberação de antígenos tumorais e DAMPs (Padrões moleculares associados à danos) durante a destruição da célula tumoral promovida pela oxaliplatina, essas moléculas de sinalização irão ativar receptores específicos, dentre eles o TLR4 (Receptor Toll-4), expressos nas APCs (células apresentadoras de antígenos) tornando-as aptas a ativar as células T citotóxicas, iniciando assim a resposta imune adaptativa contra as células neoplásicas

(TESNIERE, 2010; LEIPENG, 2015). Estudos in vivo indicam também a capacidade desse quimioterápico de regular negativamente moléculas inibitórias, como a PD1 e PDL2, tanto em APCs como em células tumorais, evidenciando um outro potencial mecanismo que favorece a ativação da resposta imune adaptativa (DEQIANG, 2020).

Figura 4 Mecanismo imunogênico da oxaliplatina



Fonte: Adaptado de Stanleyson, 2014.

A oxaliplatina potencializa a resposta imune adaptativa contra as células tumorais por diferentes mecanismos como mostra a figura acima. Inicia-se com a liberação de ATP extracelular e HMGB-1 por essas células mortas expostas à platina.

Os agentes platinos apresentam efeitos dose-limitantes bastante característicos, como a nefrotoxicidade, causada principalmente pela cisplatina; mielossupressão, pela carboplatina e a neurotoxicidade, pela oxaliplatina. Esses efeitos prejudicam a eficácia do tratamento oncológico, pois às vezes é necessário reduzir a dose, aumentar o intervalo de

administração ou mesmo suspender a quimioterapia a depender da gravidade do quadro clínico do paciente.

A neurotoxicidade induzida pela oxaliplatina é manifestada pelos pacientes como uma neuropatia periférica, caracterizada por um conjunto de sintomas sensitivos e motores reversíveis ou mesmo irreversíveis que reduz consideravelmente a qualidade de vida desses pacientes. Além desse efeito dose-limitante, esse agente platino de 3<sup>o</sup> geração pode causar outros efeitos, como náuseas, vômitos, diarreia, mucosite e mielossupressão que, apesar de não serem dose-limitantes, afetam também a sua condição clínica, contudo apresentam intervenções terapêuticas capazes de atenuar tais efeitos. Em contrapartida, a neurotoxicidade, além de ser o principal efeito colateral, apresenta maior dificuldade de manejo e de prevenção, pois atualmente ainda não existe uma intervenção terapêutica realmente eficaz em prevenir ou atenuar esse efeito (OUN, 2018).

## **2.2 Neurotoxicidade induzida por oxaliplatina**

A neuropatia periférica induzida por quimioterapia é uma condição clínica grave ocasionada por fármacos citotóxicos, como os compostos platinos, taxanos, alcalóides de vinca, inibidores de proteossoma e fármacos imunomoduladores, que geram nos neurônios sensitivos e motores danos (neurotoxicidade) que podem ser reversíveis ou até mesmo irreversíveis, a depender da dose, do tempo de exposição e de fatores intrínsecos ao paciente, como polimorfismos e comorbidades. Dentre os fármacos que comprometem o sistema nervoso periférico e central, destaca-se a oxaliplatina cuja neurotoxicidade se manifesta como o efeito colateral mais proeminente e dose-limitante, sendo necessário, por causa do quadro neuropático grave, reduzir a dose, prolongar o intervalo de administração ou até mesmo suspender o quimioterápico, prejudicando, dessa forma, a eficácia do tratamento oncológico, principalmente do câncer colorretal metastático, neoplasia que apresentava um péssimo prognóstico antes da inclusão da oxaliplatina no esquema terapêutico de primeira linha (YANG, 2021). Essa neurotoxicidade é resultante dos efeitos deletérios da oxaliplatina tanto nos gânglios da raiz dorsal dos neurônios sensoriais como também nos neurônios motores, ocasionando a neuropatia periférica. Além disso, foi observado também que o oxalato potencialmente está envolvido no agravamento da alodinia ao frio, apesar dos mecanismos não estarem totalmente esclarecidos, propõe-se que seja responsável pela liberação de espécies reativas de oxigênio e que o mesmo contribui para o desenvolvimento mais precoce da neuropatia, apesar de não ser essencial para essa condição ocorrer (PEREIRA et. al., 2018).

### ***2.2.1 Neuropatia sensitiva periférica***

A neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina (NPIO) pode ser classificada em aguda ou crônica, havendo diferenças entre si no que diz respeito à incidência, aos sintomas, à duração, aos mecanismos patológicos e às outras características clínicas. Cerca de 85-96% dos pacientes que utilizam esse quimioterápico manifestam a forma aguda da NPIO, caracterizada principalmente pela hipersensibilidade ao frio que acomete os membros extremos (mãos e pés) e a região perioral, e por vezes acompanhado também por sintomas motores (contrações musculares prolongadas, espasmos tetânicos e fasciculações) e pela dificuldade em deglutir, disestesias e parestesias. Esses efeitos tendem a aparecer poucas horas após a administração do fármaco e podem perdurar por até 7 dias (GROLLEAU, 2001; EWERTZ, 2015; HAN, 2016).

O principal mecanismo proposto desencadeador desses sintomas agudos é a canalopatia, ou seja, disfunções dos canais iônicos, principalmente o de Na<sup>+</sup> ativado por voltagem, presentes nos neurônios sensoriais dos gânglios da raiz dorsal (DRG), o qual o oxalato (metabólito gerado pela dissociação da oxaliplatina) está envolvido, promovendo um quadro de hiperexcitabilidade neuronal (LEHKY, 2004; ALBERTI, 2020). Dependendo da intensidade dos sinais e sintomas agudos da NPIO, bem como da dose cumulativa e da própria susceptibilidade, o paciente pode progredir para a forma crônica da neuropatia.

A forma crônica da NPIO geralmente ocorre quando as doses cumulativas excedem 780–850 mg/m<sup>2</sup> com incidência de 40-93%, caracterizada por sintomas, como dormências, alterações na sensação e na propriocepção, prejudicando a qualidade de vida dos pacientes durante meses ou até mesmo anos e, em alguns casos, tais alterações permanecem durante toda a vida. Estudos apontam que a mitotoxicidade (dano mitocondrial), morte de neurônios sensoriais, ativação da glia e neuroinflamação são alguns mecanismos envolvidos na manutenção crônica do quadro neuropático (BEIJERS, 2014; PACHMAN, 2015; GRIFFITH, 2017). Diante disso, observa-se que os mecanismos envolvidos na NPIO aguda e crônica divergem entre si, enquanto que na forma aguda é desencadeada por disfunções em canais iônicos, na forma crônica também está associada ao dano nuclear, dano mitocondrial induzido por estresse oxidativo e neuroinflamação (LEHKY, 2004; ALBERTI, 2020).

Dentre os mecanismos envolvidos na hiperalgesia ao frio induzida pela oxaliplatina, destaca-se a canalopatia, caracterizada por alterações na atividade dos canais iônicos dependentes de voltagem, como canais de Na<sup>+</sup>, de K<sup>+</sup> e de Ca<sup>+2</sup>, e dependentes de

ligantes, como os TRPs (Canais de Receptores de Potencial Transientes). É reconhecido que tanto a oxaliplatina como o seu metabólito oxalato, considerado agente quelante do íon cálcio, afetam os potenciais de membrana dos neurônios sensoriais do DRG, através do atraso na inativação dos canais de  $\text{Na}^+$ , prolongando o tempo de abertura dos mesmos e promovendo uma hiperexcitabilidade desses neurônios. Esse estado de hiperexcitabilidade é interpretado e manifestado pelo paciente como uma hipersensibilidade ao frio, efeito colateral bastante característico da fase aguda na NPIO, mas que também pode permanecer durante a fase crônica, nessa fase com características algicas (SITTL, 2012; AVAN, 2015). O envolvimento dos canais de  $\text{Na}^+$  fica evidente quando esses sintomas são aliviados após a administração de bloqueadores desses canais, como lidocaína, carbamazepina e mexiletina (EGASHIRA, 2010; DEUIS, 2013).

Os canais de  $\text{K}^+$  desempenham um papel importante na regulação da transmissão nociceptiva e na excitabilidade dos neurônios sensoriais. Os canais de  $\text{K}^+$  TREK-1 (Canal de  $\text{K}^+$  relacionado ao TWIK1) e TRAAK (Canal de  $\text{K}^+$  da subfamília K membro 4), importantes na hiperpolarização da membrana neuronal, tem sua expressão reduzida nos neurônios ganglionares da raiz dorsal de roedores tratados com oxaliplatina, enquanto que a expressão dos canais de  $\text{K}^+$  pró-excitatórios, como os ativados por hiperpolarização (HCNs), é aumentada. Tais alterações promovidas por esse agente platino contribuem na manutenção de estado de hiperexcitabilidade dos nociceptores (LAINEZ, 2019). Estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram que a administração de riluzol (ativador de TREK-1 e TRAAK) foi capaz de aliviar as alterações motoras e sensoriais induzidas pela oxaliplatina, mostrando o envolvimento desses canais na condição neuropática bem como um promissor alvo terapêutico, considerando que o mesmo não interferiu na atividade antiproliferativa do quimioterápico (STAROBOVA, 2017; POUPON, 2018; KERCKHOVE, 2019).

Foi observado também que a administração aguda de oxaliplatina foi responsável por reduzir as correntes dos Canais de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo L-, T- e P/Q, enquanto que a administração crônica foi capaz de aumentar tanto as correntes dos Canais de  $\text{Ca}^{+2}$  tipo L- e T- como também a expressão das suas proteínas nos neurônios dos GRD (SCHMITT, 2018).

A superfamília dos Receptores de Potencial Transientes (TRPs) é classificada em 6 subfamílias com base em sua homologia nas sequências de aminoácidos. Esses receptores desempenham diversas funções celulares, principalmente nas vias que dependem do influxo de cálcio, como exemplo a reposição dos estoques desse íon, modulação do ciclo celular e a

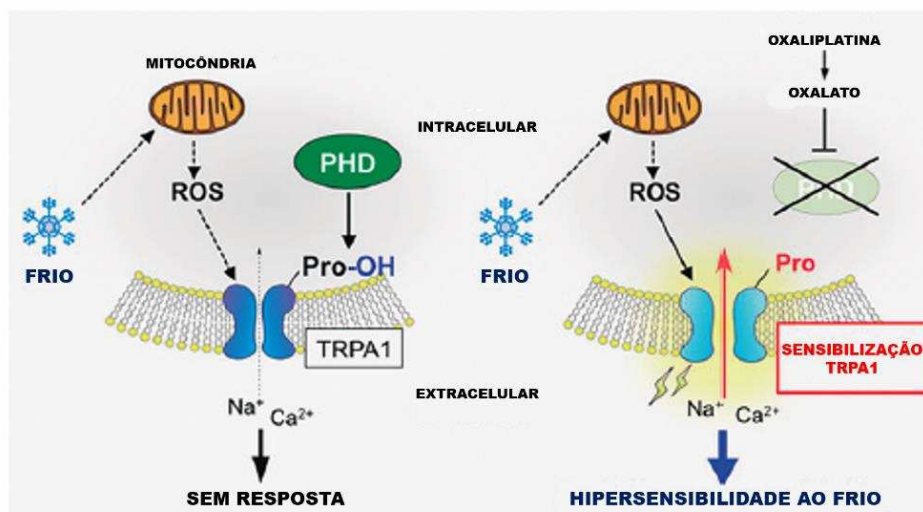
transmissão nociceptiva.

Os receptores, como os TRPA1, TRPC6, TRPM8 e TRPV1, estão expressos em diversas regiões da via ascendente da dor, como nos gânglios da raiz dorsal (DRG), nas terminações nervosas livres, nas células da glia e ao longo do neurônio aferente primário, estando envolvidos diretamente ou indiretamente na transdução do estímulo nocivo em potenciais de ação, portanto cooperando com a transmissão nociceptiva, além de estarem envolvidos também na hipersensibilidade prolongada aos estímulos térmicos, mecânicos e químicos. Diversos estímulos são capazes de ativar esses canais, entre eles os estímulos mecânicos e térmicos, além das substâncias químicas endógenas, como prostaglandinas, histamina, espécies reativas de oxigênio, e exógenas, como o mentol e a capsaicina, tornando-os alvos importantes na transmissão nociceptiva, considerando a importância do íon cálcio na etiologia da dor (WU, 2010).

Dentre esses TRPs, destaca-se os TRPM8 e TRPA1 envolvidos na hiperalgesia ao frio. Os TRPA1 (Receptores de Potencial Transientes Anquirina 1) são ativados pelo frio nocivo ( $<18^{\circ}\text{C}$ ) e também por estímulos mecânicos, além de desempenharem um papel chave na regulação da inflamação neurogênica, por sua importância no estresse oxidativo, além de serem ativados por mediadores inflamatórios, como as prostaglandinas e a bradicinina. Portanto o TRPA1 torna-se um importante componente na transmissão nociceptiva, pois muitos quimioterápicos, incluindo a oxaliplatina, são responsáveis por induzir o estresse oxidativo tanto nas células neoplásicas como também em células saudáveis, como os neurônios periféricos.

Foi observado em estudos que a oxaliplatina é capaz de sensibilizar e ativar os TRPA1 indiretamente, através da inibição enzimática da Prolil Hidroxilase e também da oxidação dos resíduos de cisteína pelo peróxido de hidrogênio, produzido rapidamente por esse quimioterápico, permitindo a transdução desses sinais em sensibilidade ao frio (HINMAN, 2006; MACPHERSON, 2007; NASSINI, 2013).

Figura 5 – Sensibilização e ativação dos TRPA1 causada pela oxaliplatina.



Fonte: Nakagawa, 2017.

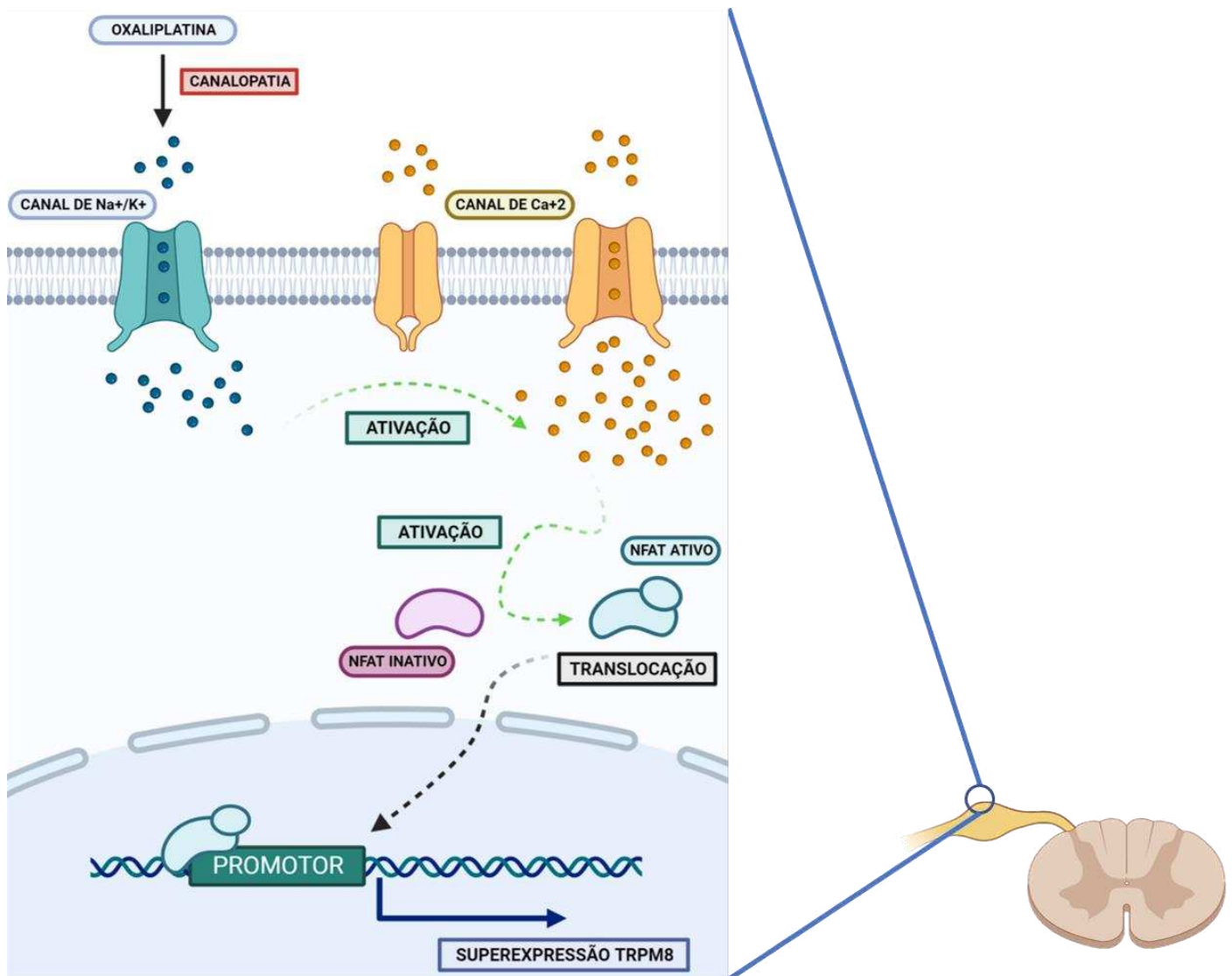
Observa-se o papel da Prolil-hidroxilase (PHD) na hidroxilação dos resíduos de prolina, alterando a conformação do TRPA1 para um estado de inatividade. O oxalato gerado pela oxaliplatina promove a ativação e a sensibilização desse canal, através da inibição da PHD como também pela produção de espécies reativas de oxigênio, como sendo um dos mecanismos envolvidos na hipersensibilidade ao frio.

O canal TRPM8, por sua vez, pertence à subfamília melastatina e desempenha um papel importante na percepção do frio inócuo (8°-25°C), além de serem ativados por agentes químicos naturais e sintéticos, como o mentol, eucaliptol e icilina. Apesar dos mecanismos envolvidos ainda serem controversos, alguns estudos evidenciaram sua participação na dor neuropática induzida por oxaliplatina, esta responsável por aumentar a expressão tanto desse transportador em fibras de médio porte como também do RNAm de TRPM8 em neurônios de DRG em camundongos com hiperalgesia ao frio, este último mediado pela translocação nuclear do NFAT (Fator Nuclear de Ativação de Células T) (GAUCHAN, 2009; KAWASHIRI, 2012).

Outro mecanismo envolvido na neurotoxicidade da oxaliplatina está associada ao seu acúmulo nos neurônios DRG, favorecendo a formação de aductos DNA-Platino tanto das mitocôndrias como do DNA nuclear desses tecidos, desencadeando a mitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação (ZHENG, 2011; CAROZZI, 2015). O acúmulo desse quimioterápico nesses tecidos é devido a fatores, como a ausência de uma barreira entre a circulação sanguínea e o neurônio e a presença de capilares fenestrados, além da presença de transportadores responsáveis por mediar o transporte até esses tecidos, dentre eles, destacam-

se os transportadores de cátions orgânicos (OCTs) e os transportadores de cobre (CTRs). Estudos apontam que o OCT2 e o CTR1 estão envolvidos no transporte da OXL, pois camundongos knockout para OCT2 apresentaram menor sensibilidade ao frio e estimulação mecânica comparado aos camundongos WT. Enquanto que a suprarregulação desses transportadores nos neurônios DRG promoveu maior agravo da neuropatia (SPROWL, 2013).

Figura 6 – Superexpressão dos TRPM8 pela oxaliplatina via  $\text{Ca}^{+2}$  tipo L/NFAT.



Fonte: Autoria própria.

A oxaliplatina bem como o seu metabólito, oxalato, ocasionam disfunções nos canais de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{K}^+$  ocasionando uma alteração no potencial de membrana. A partir disso, os canais de  $\text{Ca}^{+2}$ , principalmente o tipo T, são ativados, havendo o influxo desse íon. O aumento do  $\text{Ca}^{+2}$  intracelular induz a ativação do fator nuclear das células T ativadas (NFAT), o qual será translocado até o núcleo, interagindo com seu promotor e aumentando a expressão gênica do RNAm TRPM8. A superexpressão desse transportador está associado ao desenvolvimento da hipersensibilidade ao frio.

A partir do seu mecanismo citotóxico, a oxaliplatina é capaz de promover a

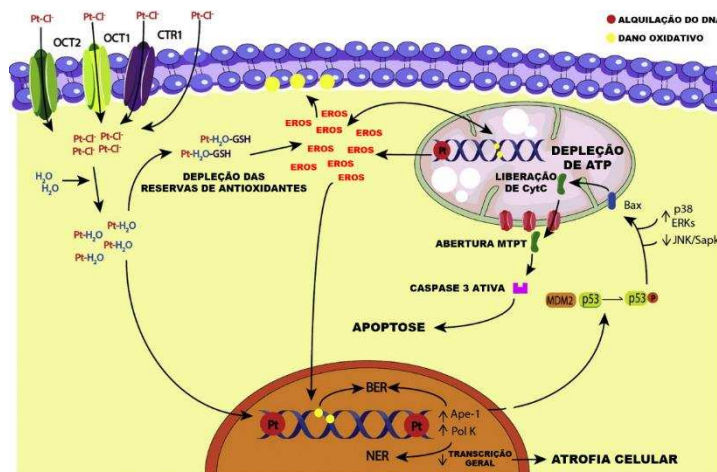
mitotoxicidade. O DNA mitocondrial é bem mais susceptível aos efeitos alquilantes do quimioterápico, uma vez que o mesmo não apresenta sistemas de reparo como o DNA nuclear. Aliado a isso, a oxaliplatina pode promover também efeitos citotóxicos nas mitocôndrias axonais, levando a uma falha energética dos neurônios DRG e posterior atrofia desses tecidos, conseqüentemente (ZHENG, 2011; CAROZZI, 2015).

A neuroinflamação induzida por oxaliplatina está envolvida no desenvolvimento dos sintomas neuropáticos. Estudos apontam que tanto os receptores Toll-like 4 (TLR4) presentes em macrófagos bem como nas células T (Th17 e Th1) estão envolvidos na inflamação induzida pela oxaliplatina, e são potencialmente responsáveis pela dor neuropática (MAKKER, 2017; STOJANOVSKA, 2018).

Foi observado que a oxaliplatina foi capaz de aumentar transitoriamente a ativação tanto da microglia como dos astrócitos nas áreas supraespinhais e na medula, reduzindo os limiares de nocicepção aos estímulos térmicos e mecânicos em animais (DI CESARE, 2014; JANES, 2015). Além disso, observou-se em estudos *in vitro* o potencial da oxaliplatina em gerar danos em células de Schwann primárias, evidenciado pela redução da proteína básica de mielina, e a mesma foi capaz de induzir a perda de fibras nervosas intraepidérmica e degeneração axonal em pacientes (IMAI, 2017).

A oxaliplatina induz a ativação da via apoptótica dos neurônios DRG, através da ativação da fosfoproteína 38 (p38) e da quinase 1/2 regulada extracelular (ERK1 / 2), além de reduzir a expressão da proteína ativada por estresse quinase (JNK / Sapk) de forma a agravar ainda mais o citotoxicidade a esses tecidos. (TA LE, 2006).

Figura 7 – Estresse oxidativo, mitotoxicidade e ativação da via apoptótica causada pela oxaliplatina.



*Fonte: Adaptado de Calls et. al., 2020.*

Representação esquemática do estresse oxidativo, mitotoxicidade e ativação da via apoptótica promovida pela oxaliplatina. Seja por difusão passiva ou pelo transporte ativo pelos transportadores OCT1, OCT2 e CTR1, a oxaliplatina entra dentro do neurônio, onde irá reagir com o DNA nuclear e mitocondrial, causando uma série de disfunções celulares que culmina em estresse oxidativo e, em última instância, apoptose celular.

### **2.2.2 Disfunção motora associada à neurotoxicidade da oxaliplatina**

As disfunções motoras associadas à neurotoxicidade da oxaliplatina ainda são pouco exploradas quando comparado aos sintomas sensitivos desencadeados por esse quimioterápico, o qual já se tem diversos estudos propondo e elucidando mecanismos envolvidos e vários potenciais terapêuticos tem sido estudados, tanto na prevenção como no tratamento dessa condição. Em contrapartida, mesmo que os sintomas motores causados pela oxaliplatina sejam menos proeminentes que os sensitivos, sabe-se que as alterações motoras podem se manifestar de forma tão grave e incapacitante quanto (LEONARD, 2004; TALEB, 2017).

Na clínica, os pacientes em uso da oxaliplatina relatam alguns sintomas que estão associados também ao comprometimento motor, como o aumento do risco de quedas, bradicinesia, fraqueza muscular, câimbras, prejuízos na coordenação motora, no equilíbrio e na marcha e, em casos mais graves, fraqueza muscular generalizada, redução do reflexo tendinoso profundo e paraplegia (LEONARD, 2004; TOFTHAGEN, 2012; TALEB, 2017). Vários métodos objetivos tem sido empregados para avaliar tais disfunções na clínica, como a observação da marcha, teste de Romberg, Timed Up & Go e teste de força de preensão, além de instrumentos com questionários, como o Questionário de Dor McGill (MELZACK, 1975), Escala de Dor Neuropática (GALER, 1997), Avaliação da Escala de Neuropatia Periférica (BRUNER, 2007), Escala para Neurotoxicidade de Longo Prazo Induzida por Quimioterapia (OLDENBURG, 2006), Avaliação de Sinais e Sintomas Neuropáticos de Leeds (BENNETT, 2001), TNAS (MENDOZA, 2015) e entre outros. Além disso, métodos eletrofisiológicos empregados na clínica evidenciaram que a oxaliplatina foi capaz de reduzir pela metade a amplitude do nervo motor, além de gerar axonopatia e hiperexcitabilidade do nervo motor (LEONARD, 2004; HILL, 2010). Contudo, mesmo com essas ferramentas, os sintomas motores são geralmente negligenciados na neuropatia periférica induzida por oxaliplatina, concentrando os estudos no comprometimento sensorial, mesmo sabendo que as alterações motoras podem afetar significativamente a qualidade de vida dos pacientes e por vezes de

forma irreversível (LEONARD, 2004).

Referente aos estudos pré-clínicos, apesar de serem escassos, os resultados mostram que a oxaliplatina reduziu significativamente a velocidade de condução do nervo motor, regulou negativamente o marcador axonal neurofilamento-200 como também reduziu a expressão de neuregulina 1, o qual foi confirmado por testes eletrofisiológicos e ensaios de imunofluorescência e RT-PCR, respectivamente. Foi observado também hipomielinização do nervo ciático que em parte pode estar associada à redução dos níveis da proteína zero da mielina (MPZ), esta importante na constituição da mielina dos nervos periféricos. Na avaliação histopatológica do nervo ciático, observou-se também desmielinização das fibras axonais (SPROWL, 2013; TSUTSUMI, 2014; TALEB, 2017).

Sabe-se que a perda da propriocepção e da sensibilidade dos membros associado ao comprometimento sensorial causada pela oxaliplatina podem prejudicar indiretamente as funções motoras dos pacientes, contudo, a partir desses estudos clínicos e pré-clínicos, observa-se que a oxaliplatina também prejudica diretamente o componente motor (WANG, 2020). Mesmo com os baixos esforços em estudar os mecanismos envolvidos nessas disfunções motoras, alguns estudos propõem que o acúmulo desse quimioterápico nos neurônios motores esteja envolvido nas disfunções das fibras motoras e que, segundo os estudos de SPROWL et. al. (2013), o principal transportador envolvido seja o OCT2. Observou-se que a sua superexpressão aumentou em 14 vezes o transporte desse quimioterápico da junção neuromuscular para dentro do neurônio motor pré-sináptico, assim como também a formação de aducto de platina-DNA do nervo ciático reforçando ainda mais o mecanismo proposto (SPROWL et al, 2013). Fisiologicamente, o OCT2 está expresso nos terminais nervosos colinérgicos (terminais C) e nas placas terminais dos neurônios motores pré-sinápticos e é responsável pela reciclagem da acetilcolina, neurotransmissor importante na contração muscular (NAKATA, 2013). Outro mecanismo supostamente envolvido na hiperexcitabilidade do nervo motor com contração muscular é a quelação de íons cálcio ou outros íons divalente endógenos pelo agrupamento de saída oxalato, contudo mais estudos são necessários para esclarecer melhor esse mecanismo (HILL, 2010).

A busca por um tratamento bem como prevenção da NPIO é uma necessidade urgente, considerando que atualmente não existe nenhuma medida terapêutica realmente eficaz em tratar ou prevenir essa condição. Muitos estudos pré-clínicos e clínicos tem sido direcionados na busca por potenciais terapêuticos no manejo dos sintomas sensoriais e, até o

momento, apenas a duloxetina é considerada pela Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) como moderadamente recomendada para o tratamento da NPIO. Em contrapartida, nenhuma intervenção farmacológica específica tem sido recomendada para a prevenção ou tratamento das alterações motoras causadas pela oxaliplatina. Portanto, mesmo que as pesquisas translacionais nessa área sejam consideradas urgentes e prioritárias pelo Comitê de Gestão de Sintomas e Qualidade de Vida Relacionada à Saúde do Instituto Nacional do Câncer, ainda há muitas controvérsias envolvendo os diversos agentes testados para tratar ou prevenir essa condição clínica, justamente devido à falta de evidências de alta qualidade (POUPON, 2015; HU, 2019; BEIJERS, 2020).

Nesse contexto, os estudos pré-clínicos são necessários para investigar ferramentas farmacológicas com potencial terapêutico na clínica, porém para isso se faz necessário realizar testes com reprodutibilidade que possam representar bem o contexto clínico. Em relação aos modelos que avaliam a neuropatia periférica, muitos já estão bem estabelecidos, como o teste de Von Frey, teste da acetona, teste de imersão da cauda e entre outros. Em contrapartida, devido à falta de esforços em estudos nessa vertente, poucos modelos confiáveis estão disponíveis para avaliar o comprometimento motor em um modelo de NPIO.

Referente aos critérios de avaliação e de diagnóstico na clínica, atualmente não existe um protocolo amplamente aceito para o diagnóstico da NPIO. Nesse contexto, realiza-se um conjunto métodos para confirmar o diagnóstico, como a avaliação clínica dos sinais e sintomas, utilização de testes sensoriais quantitativos (QST), avaliação eletrofisiológica e aplicação de escalas, como Total Neuropathy Score (TNSc), o National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) e Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer (EORTC) QLQ-C30 (AARONSON, 1993; MERKIES, 2000; WOLF, 2012; FERDOUSI, 2015; HEUVEL, 2019).

### **3. JUSTIFICATIVA**

A oxaliplatina é um agente alquilante análogo da platina de 3<sup>o</sup> geração, considerada como primeira linha de tratamento do câncer colorretal metastático, o segundo tipo de câncer mais incidente no Brasil e no mundo, e como adjuvante no tratamento do câncer de ovário, de estômago, pâncreas e entre outros. A oxaliplatina é responsável por prolongar a expectativa de vida dos pacientes em cerca de 20 meses e diferentemente dos

análogos das gerações passadas, como a cisplatina e a carboplatina, ela apresenta um perfil de distorção do DNA bem diferente, tornando-a eficaz no tratamento de câncer resistentes a esses análogos. Apesar da oxaliplatina apresentar menos efeitos colaterais, como a mielossupressão e nefrotoxicidade quando comparado à carboplatina e à cisplatina, respectivamente; a neurotoxicidade é o efeito dose-limitante mais proeminente e incapacitante, portanto quando manifestado pelos pacientes, a depender da gravidade, é necessário reduzir a dose, prolongar o intervalo de administração ou mesmo suspender o medicamento, prejudicando a eficácia do tratamento antineoplásico.

Essa neurotoxicidade é manifestada pelos pacientes principalmente por sintomas sensitivos, como formigamentos, parestesias, perda da propriocepção, hipersensibilidade ao frio, dormência e entre outros. Contudo, apesar de raro, os pacientes também podem manifestar sintomas motores associados à neurotoxicidade causada pela oxaliplatina, como fraqueza muscular, bradicinesia, câimbras, prejuízos na coordenação motora, no equilíbrio e na marcha e, em casos mais graves, fraqueza muscular generalizada, redução do reflexo tendinoso profundo e paraplegia. Portanto, mesmo que esses sintomas sejam menos relatados que os sensitivos, quando manifestados podem reduzir significativamente a qualidade de vida dos pacientes.

É notável que os sintomas motores têm sido negligenciados na clínica e os maiores esforços tem se concentrado nos estudos acerca do comprometimento sensitivo. Além disso, poucos estudos pré-clínicos se propõem a avaliar as disfunções motoras induzidas por oxaliplatina. E uma grande dificuldade encontrada é a carência de modelos animais eficazes em acompanhar a progressão dos sintomas motores em função do tempo de administração do quimioterápico. Consequentemente, ainda não se tem uma terapia farmacológica específica e realmente eficaz em prevenir ou reduzir o comprometimento motor dos pacientes neuropáticos em uso da oxaliplatina.

E por fim, em contraste aos estudos acerca da neuropatia sensitiva, os mecanismos envolvidos nas disfunções motoras ainda são desconhecidos e raros estudos elucidam de fato os mecanismos envolvidos.

O Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA) já vem desenvolvendo ao longo dos anos vários estudos, publicados e em produção, acerca da neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina, e esta pesquisa, em específico, se propõe a estudar uma outra vertente da neuropatia com enfoque nas disfunções motoras

causadas por essa neurotoxicidade, tendo em vista a escassez de estudos clínicos acerca do envolvimento desse quimioterápico no comprometimento motor bem como a carência de modelos animais em estudos pré-clínicos que possibilitam a elucidação dos mecanismos envolvidos como também a investigação de ferramentas farmacológicas com potencial terapêutico.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar as disfunções motoras associadas à neurotoxicidade causada pela oxaliplatina em camundongos com neuropatia periférica.

### **4.2 Objetivos Específicos**

- Analisar o comportamento exploratório, como o número de cruzamentos e de levantamentos, no tempo de mobilidade e de imobilidade dos camundongos sob efeito da oxaliplatina, por meio do teste de Campo Aberto.
- Avaliar o Índice Funcional do Nervo Ciático dos camundongos submetidos à administração da oxaliplatina, através da avaliação da marcha.
- Estimar o efeito da oxaliplatina na força e na resistência muscular dos camundongos, através dos Testes de Força de Apreensão e do Tempo de Suspensão.
- Avaliar o equilíbrio dos camundongos sob a ação da oxaliplatina, através do teste da Barra de Equilíbrio.
- Constatar a presença de alterações neuromotoras estruturais ou teciduais, através da avaliação dos nervos ciáticos, através de técnicas histopatológicas.
- Avaliar o estresse oxidativo causado pela oxaliplatina no nervo ciático e na medula em camundongos, por meio da dosagem de GSH (Glutathiona reduzida) e MDA (Malondialdeído).

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Considerações Éticas**

A manipulação dos animais foi realizada de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) e com a lei No 11.794, de 8 de outubro de 2008; o protocolo experimental foi submetido e aprovado pela CEUA/UFC (Comissão de Ética em Utilização de Animais) com processo sob No 36/17.

### **5.2 Animais**

Foram utilizados 8 camundongos Swiss machos SPF (Specific Pathogen Free - Livres de Patógenos Específicos) para cada grupo (controle e oxaliplatina), pesando entre 25 a 30g, obtidos e mantidos no Biotério do NPDM (Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos) em condições laboratoriais altamente controladas de temperatura a  $24^{\circ}\text{C}\pm 1$  e umidade entre 45-60% em um ciclo fixo de 12 horas claro/escuro com comida e água à vontade. Foram alojados quatro animais por caixa, totalizando oito animais (2 caixas) por grupo.

### **5.3 Drogas**

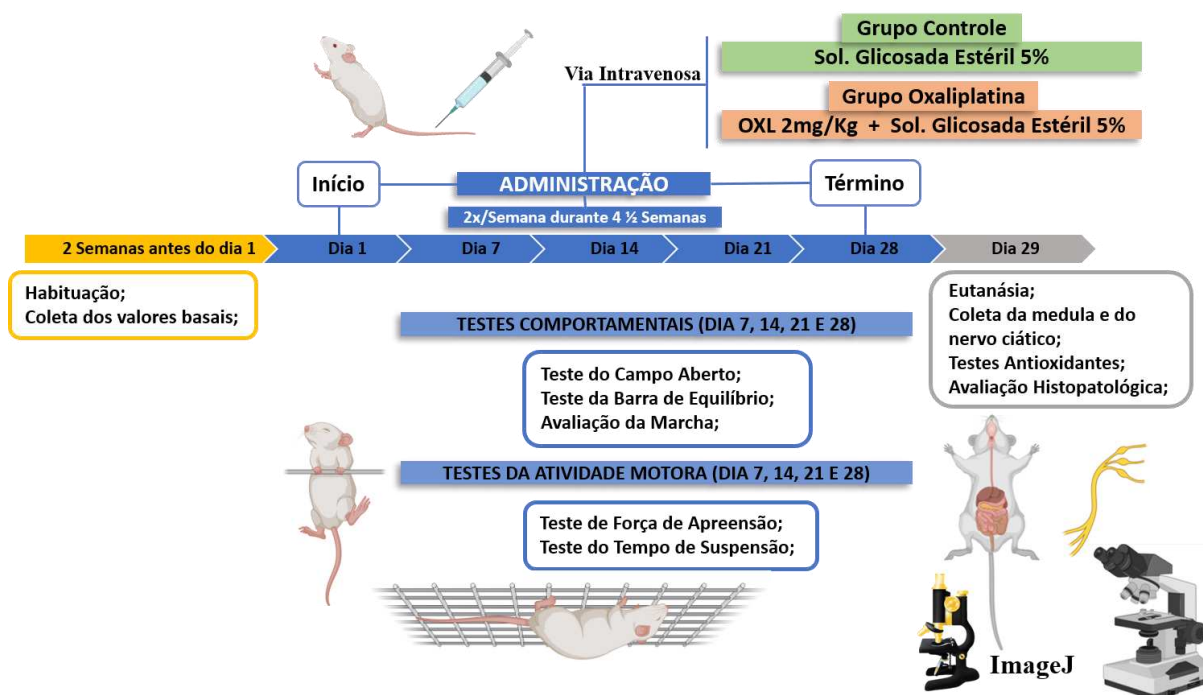
A Eloxatin® (Oxaliplatina, Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda) foi adquirida pela Sanofi, enquanto que os outros compostos puros foram adquiridos da Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO, EUA). O fármaco foi diluído no dia dos experimentos e administrado por injeção intravenosa, num volume de 0,1ml/10g de peso corporal. Os animais do controle receberam o mesmo volume de solução glicosada estéril a 5% usada na diluição.

### **5.4 Local de Estudo**

O estudo foi realizado no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer do Núcleo de Pesquisa e de Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM). Os protocolos de experimento comportamental foram realizados no Biotério do NDPM.

## 5.5 Desenho Experimental

Figura 8 – Desenho experimental



Fonte: Autoria própria.

Trata-se de um estudo experimental, o qual foi utilizado camundongos Swiss machos. Inicialmente, foi realizada habituação e treinamento dos animais nos testes experimentais, durante as duas semanas precedentes ao início do tratamento. No dia 0, foram realizadas coletas dos valores basais dos testes comportamentais e motores dos grupos, denominados controle e oxaliplatina. As administrações da oxaliplatina foram iniciadas no dia 1 e finalizadas no dia 28, durante esse período foram realizadas duas vezes por semana (4,5 semanas) de acordo com o modelo estabelecido por nosso grupo.

Os testes experimentais foram realizados semanalmente nos dias seguintes à administração da droga, sendo primeiramente realizados os testes comportamentais (Teste de Campo Aberto, Teste da Barra de Equilíbrio e Avaliação da Marcha) e posteriormente os testes de atividade motora (Teste de Força de Apreensão e Teste de Tempo de Suspensão). Após a realização da última administração (Dia 28) e dos testes experimentais, os animais foram anestesiados e eutanasiados por perfusão intracardíaca com salina 0,9% seguida de paraformaldeído para a coleta dos tecidos, e posterior análise histopatológica.

## **5.6 Neuropatia periférica induzida por oxaliplatina**

A neuropatia periférica foi induzida apenas no grupo da oxaliplatina. Neste grupo, foram realizadas administrações com oxaliplatina na dose de 2mg/kg, diluída em solução glicosada estéril a 5%, através da veia lateral da cauda dos camundongos 2x/semana (4,5 semanas, total de 9 aplicações), utilizando a agulha de calibre 0,45 x 13 mm em seringa de 1 ml. No grupo controle, foi realizada apenas a administração da solução glicosada estéril a 5% na veia lateral da cauda dos camundongos (AZEVEDO et. al., 2013).

## **5.7 Avaliação Comportamental**

### **5.7.1 Teste de Campo Aberto**

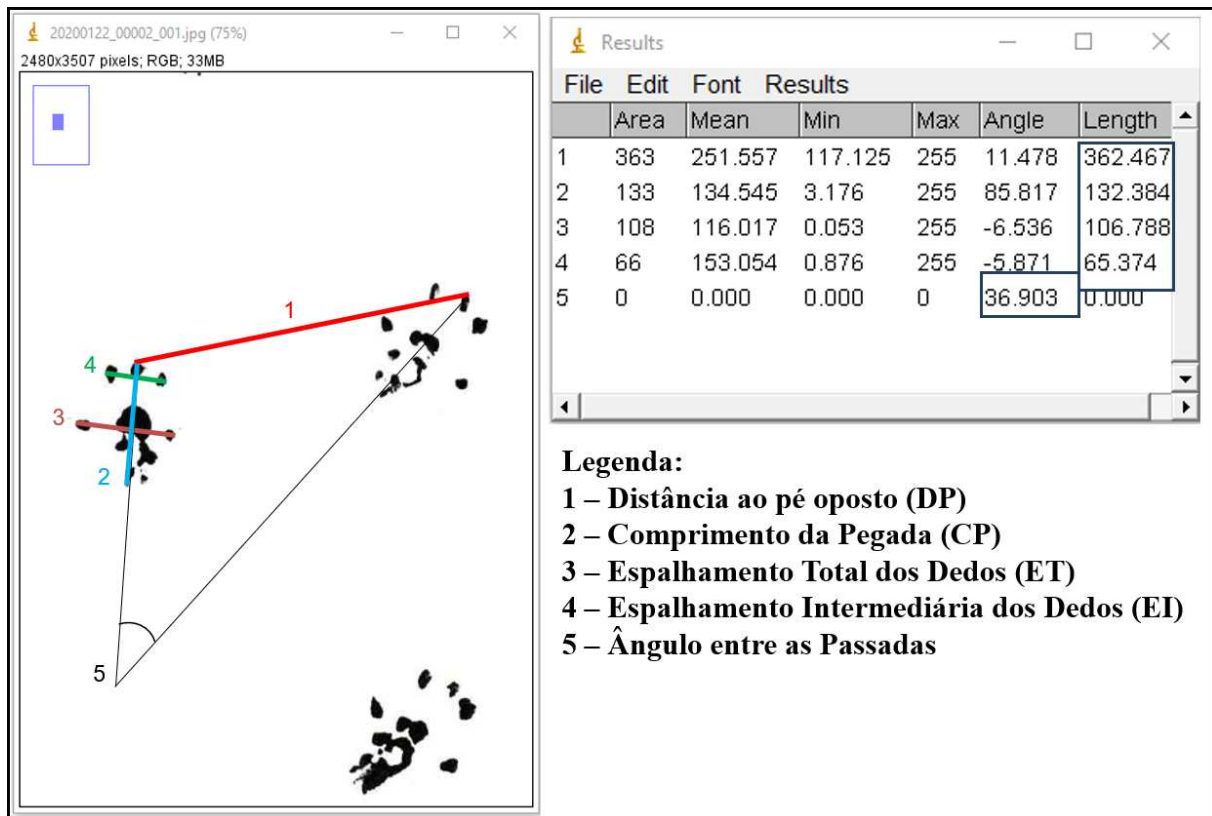
O teste foi realizado em um campo de acrílico (30X30X15 cm), dividido em 9 quadrantes com as mesmas proporções. Os animais foram colocados no centro do campo, após um minuto de exploração livre, foram avaliados durante 5 minutos. Os parâmetros utilizados na avaliação da atividade exploratória do camundongo foram: o tempo de mobilidade e de imobilidade, o número de cruzamentos (passagem das 4 patas entre os quadrantes) e o número de levantamentos (posição vertical na qual o camundongo mantém as duas patas traseiras apoiadas na superfície). O teste foi realizado em ambiente com o mínimo de ruído e iluminação sob luz vermelha de 60W (ARCHER,1973).

### **5.7.2 Registro da Marcha**

Nesse método foram utilizados tiras de papel branco A4 com dimensões 28 cm de comprimento e 5 cm de largura, as quais foram colocados em uma plataforma com passarela e paredes elevadas para camundongos (LOWDON, DEADER & URBANIAK, 1988). Realizou-se a imersão das patas traseiras dos camundongos em tinta guache à base de água de cor preta e em seguida foram colocados na plataforma para o registro da marcha. Após os registros das marchas, as tiras de papéis foram secadas e posteriormente digitalizadas. Foi utilizado o software Image J® para avaliar as imagens digitalizadas e os parâmetros avaliados foram: a distância entre o dedo médio da pegada e o calcanhar da pegada seguinte (TOF – “Distance to Opposite Foot”), comprimento da pegada (PL – “Print Length”), distância entre o 1° ao 5° dedo (TS - Total Spreading), a distância entre o 2° ao 4° dedo (IT - Distance between Intermediary Toes) da pata direita e esquerda. Esses parâmetros foram aplicados na equação matemática adaptada de De Medinaceli para a obtenção do Índice Funcional do

Ciático (IFC) (DE MEDINACELI, FREED & WYATT, 1982). Foi avaliado também o ângulo das passadas de cada camundongo, onde foi calculada a média dos ângulos de duas passadas consecutivas (FEATHER-SCUSSLER & FERGUSON, 2016).

Figura 9 – Análise dos parâmetros no ImageJ



Fonte: Autoria própria.

**Equação matemática de De Medinaceli:**

$$\left[ \left( \frac{(ETOF - NTOF)}{NTOF} \right) + \left( \frac{(NPL - EPL)}{EPL} \right) + \left( \frac{(ETS - NTS)}{NTS} \right) + \left( \frac{(EIS - NIS)}{NIS} \right) \right] \times 2.2 \times \frac{100}{4}$$

Onde: ETOF (“Experimental to other foot”): Distância ao pé oposto experimental.

NTOF (“Normal to other foot”): Distância ao pé oposto normal.

NPL (“Normal print length”): Comprimento da pegada normal.

EPL (“Experimental print length”): Comprimento da pegada experimental.

ETS (“Experimental toe spread”): Espalhamento dos dedos experimental.

NTS (“Normal toe spread”): Espalhamento dos dedos normal.

EIS (“Experimental intermediary toe spread”): Espalhamento intermediário dos dedos

experimental.

NIS (“Normal intermediate toe spread”): Espalhamento intermediário dos dedos normal.

A equação de De Medinaceli foi especificamente criada para modelos de mononeuropatias. Entretanto não sendo adequada para avaliar modelos de polineuropatias como a neuropatia diabética ou a por quimioterapia. Assim, foi feita uma modificação desta equação substituindo-se as medidas das pegadas da pata “normal” por medidas da pata em um tempo basal, isto é, medidas realizadas antes da administração da oxaliplatina (distancia basal, comprimento basal, espalhamento basal). A medida experimentais foram correspondentes de acordo com o dia de administração da oxaliplatina. Para cada parâmetro da equação, foi calculado a média da pata da esquerda e da direita de cada animal (MEDINACELI, 1982).

**Equação adaptada de De Medinaceli:**

$$\left[ \left( \frac{(\overline{DPE} - \overline{DPB})}{\overline{DPB}} \right) + \left( \frac{(\overline{CPB} - \overline{CPE})}{\overline{CPE}} \right) + \left( \frac{(\overline{ETE} - \overline{ETB})}{\overline{ETB}} \right) + \left( \frac{(\overline{EIE} - \overline{EIB})}{\overline{EIB}} \right) \right] \times 2.2 \times \frac{100}{4}$$

Onde: DPB: Distância ao pé oposto basal.

DPE: Distância ao pé oposto experimental.

CPB: Comprimento da pegada basal.

CPE: Comprimento da pegada experimental.

ETE: Espalhamento total dos dedos experimental.

ETB: Espalhamento total dos dedos basal.

EIE: Espalhamento intermediário dos dedos experimental.

EIB: Espalhamento intermediário dos dedos basal.

### **5.7.3 Teste de Equilíbrio em Barra**

Neste experimento, o equilíbrio dos camundongos foi avaliado, através de uma plataforma de acrílico (20x5 cm) a 60 cm de altura, onde os animais foram posicionados perpendicularmente e avaliado como parâmetro o número de quedas na plataforma. A avaliação acabava quando o animal fazia o percurso completo (ida e volta) três vezes. Inicialmente os animais tinham escores de 20 pontos para cada percurso, totalizando 60 pontos para cada animal. Foram diminuídos 5 pontos para cada queda durante cada percurso, e no final das três voltas realizou-se a média dos escores obtidos em cada percurso (TALEB, 2016).

## **5.8 Avaliação da Atividade Motora**

### **5.8.1 Teste de Força de Apreensão**

Este teste avaliou a força muscular dos animais em gramas, através de um Medidor de Força de aderência ou apreensão adaptado (através de uma grade de acrílico adaptada a uma balança digital) que mediu automaticamente a força de apreensão das patas dianteiras e traseiras. Os animais foram posicionados horizontalmente sob a grade acoplada à balança. Posteriormente a cauda dos animais foram tracionadas para trás de forma uniforme, registrando em gramas o pico máximo da força de apreensão que o animal segurava a grade com as quatro patas. As medidas registradas foram em triplicatas e correspondem a média dos picos máximos que os animais passavam em isometria segurando a grade até a soltura (KONDZIELA, 1964).

### **5.8.2 Teste do Tempo de Suspensão**

A resistência muscular dos animais foi avaliada em função do tempo em que os camundongos permaneceram suspensos na malha de arame (KONDZIELA, 1964). Inicialmente, os animais foram colocados individualmente no centro da malha com 43 cm<sup>2</sup>, compostas por quadrados de 12 mm<sup>2</sup>. Em seguida, o cronômetro foi ativado e a malha de arame posicionada de forma invertida a 60 cm da superfície com maravalha para amortecimento das quedas. Com a queda dos animais era cessada a cronometragem.

## **5.9 Protocolo de Eutanásia**

Após a finalização dos testes comportamentais e motores (a partir do dia 28), os animais foram anestesiados com tribromoetanol 2,5% via intraperitoneal. Após a perda dos reflexos táteis e álgicos, os animais foram submetidos à eutanásia, através da perfusão intracardíaca com 40 ml de solução salina 0,9% e 40 ml de paraformaldeído a 4% em 0,1M de Salina Buffer Fosfato (PBS).

## **5.10 Coleta de tecidos para a análise histopatológica**

Inicialmente foi realizada a eutanásia dos animais com anestesia em altas doses, a partir de uma mistura de cetamina (100mg/kg) e xilazina (10mg/kg) via intraperitoneal, em seguida, foi realizada a perfusão intracardíaca com 40ml de solução salina e 40 ml de solução de paraformaldeído (PFA) a 4% em 0,1M salina buffer fosfato (PBS). Logo após a perfusão, os segmentos lombares (L4-L5) da medula espinhal e o nervo ciático foram removidos.

### **5.11 Histopatologia dos Nervos Ciáticos**

Com o objetivo de avaliar as alterações microscópicas neuromotoras, realizou-se a coleta do nervo ciático com a finalidade de identificar alterações estruturais e danos teciduais nervosos. Os tecidos coletados foram imersos em Formaldeído Tamponado a 10% durante 24 horas para a fixação. Depois do período de fixação, os tecidos foram desidratados com Álcool a 70%, e posteriormente parafinizados. Em seguida, os cortes foram realizados com micrótomo 4  $\mu\text{m}$ , e por fim as lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e analisadas por microscopia óptica.

### **5.12 Coleta de tecidos para testes antioxidantes**

Para os testes antioxidantes, que avaliam o estresse oxidativo, foram realizados os métodos de Grupos sulfidrílicos não protéicos e Malondialdeído. Nesse caso, apenas a salina foi utilizada durante a perfusão intracardiaca e as amostras dos segmentos lombares (L4-L5) da medula espinhal e do nervo ciático foram armazenadas em nitrogênio líquido imediatamente após a sua remoção e mantidas congeladas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até o momento da utilização.

### **5.13 Avaliação do estresse oxidativo**

#### ***5.13.1 Determinação de Grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH)***

As amostras (medula espinhal e os nervos ciáticos) foram descongeladas e homogeneizadas separadamente em 1mL de solução de 0,02M de EDTA para cada 100mg de tecido, sob gelo. A partir do homogeneizado, foram retiradas alíquotas de 400 $\mu\text{l}$  e misturadas em tubos de vidro com 320  $\mu\text{l}$  de água destilada mais 80  $\mu\text{l}$  de ácido tricloroacético e em seguida foram centrifugadas (3000g/15min a  $4^{\circ}\text{C}$ ). Foram retiradas 400  $\mu\text{l}$  do sobrenadante e misturados com 800  $\mu\text{l}$  de tampão Tris (0,4 M, pH 8,9) seguido da adição de 20  $\mu\text{l}$  DTNB (ácido 2-nitrobenzoico) a 0,01 M. Após 5 minutos, a absorbância foi lida a 412 nm contra um reagente branco (sem homogeneizado), onde a concentração dos níveis de NP-SH foi registrado com  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tecido (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

#### ***5.13.2 Determinação de Malondialdeído Ensaio (TBARS)***

As amostras (medula espinhal e nervos ciáticos) foram descongeladas e homogeneizadas separadamente. A partir do homogeneizado, foram retiradas alíquotas de 250

$\mu\text{l}$  e em seguida foi adicionado 1,5 ml de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 10% e 0,5 ml de ácido tiobarbitúrico a 0,6%, essa mistura foi aquecida em banho-maria (45 minutos). Após o resfriamento, foi adicionado à mistura, 2 ml de n-butanol, realizando-se em seguida a homogeneização e centrifugação, depois, a camada de n-butanol sobrenadante foi coletada. A absorvância foi lida a 520 e 535 nm onde foi determinada a densidade ótica de n-butanol. A diferença da densidade ótica entre os resultados será calculada em relação ao valor da reação do ácido tiobarbitúrico, onde a concentração dos níveis de MDA são expressos como nm/g de tecido. (MIHARA e UCHIYAMA, 1978).

#### **5.14 Análise Estatística**

Para determinar a normalidade dos resultados, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk. Para os resultados paramétricos, foram expressos como média  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM) a partir da análise de variância (ANOVA) de duas vias e seguido dos testes de múltiplas comparações (post hoc) de Tukey e de Sidak, sendo os cálculos realizados pelo Software estatístico GraphPad Prism 6.0 (San Diego, CA, EUA). Foi considerada o valor de  $p < 0,05$  para as diferenças significativas entre os grupos. Para os resultados não paramétricos, foi realizado o teste de Wilcoxon para a análise do teste da barra de equilíbrio. Para a análise dos testes antioxidantes, foi realizado o teste T de Student.

## **6. RESULTADOS**

### **6.1 Efeito da oxaliplatina no desempenho motor de camundongos submetidos à neuropatia periférica no teste de campo aberto.**

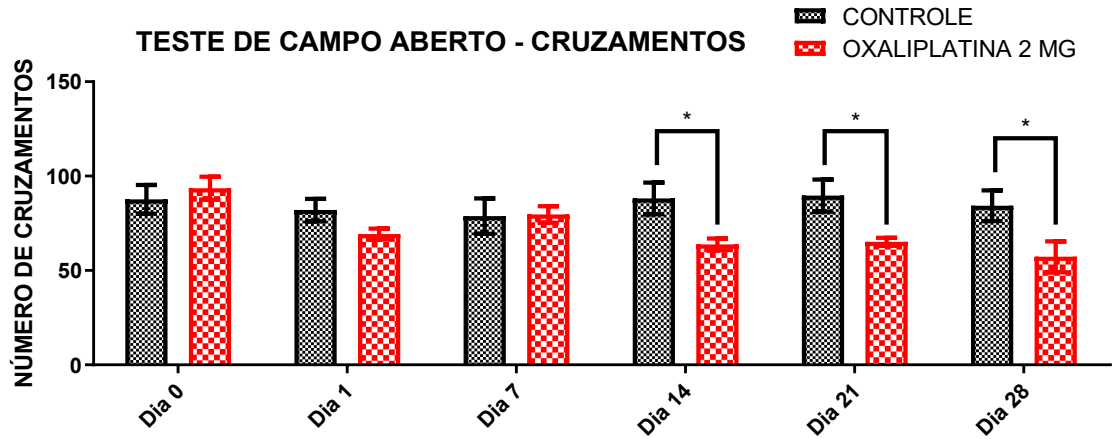
Com o intuito de avaliar a atividade exploratória dos animais, foi realizado o teste de campo aberto, o qual foram avaliados parâmetros como o número de cruzamentos, de levantamentos bem como o tempo de mobilidade e imobilidade.

Conforme apresentado no Gráfico 1, observa-se que o grupo que recebeu a oxaliplatina apresentou uma redução significativa do número de cruzamentos a partir do dia 14 e persistiu até o dia 28 quando comparado ao grupo controle. Enquanto que no Gráfico 2, nota-se uma redução significativa do número de levantamento no grupo da oxaliplatina que inicia no dia 7 e persiste até o dia 28 quando comparado ao grupo controle.

No gráfico 3 e 4, observa-se que os animais que receberam a oxaliplatina tendem a permanecer por mais tempo parados a partir do dia 14 constatando uma diferença

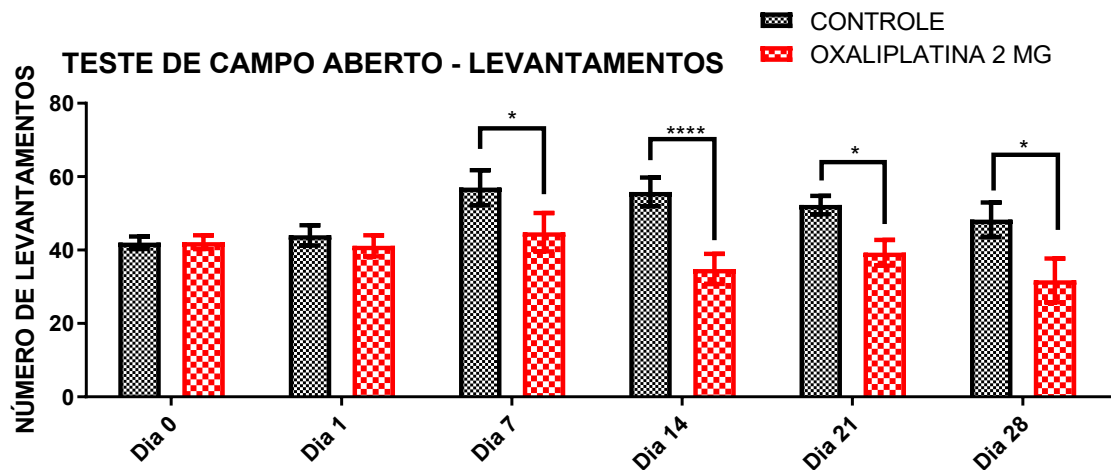
significativa em relação ao grupo controle.

Gráfico 1 – Efeito da oxaliplatina sobre o número de cruzamentos no teste do campo aberto.



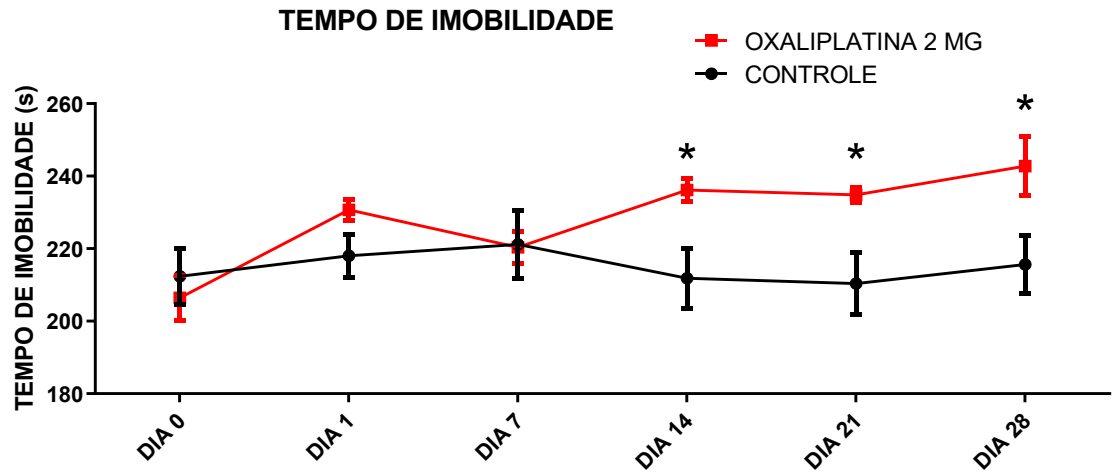
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do número de cruzamentos tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 1 ao 28. \* $P < 0,05$  versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey).

Gráfico 2 – Efeito da oxaliplatina sobre o número de levantamentos no teste do campo aberto.



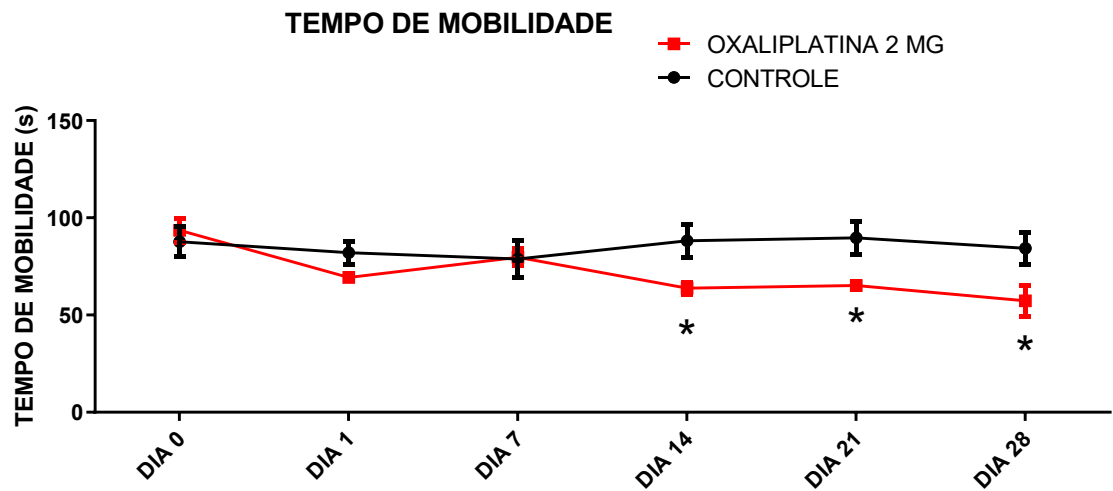
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do número de levantamentos tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 1 ao 28. \* $P < 0,05$  versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey).

Gráfico 3 – Efeito da oxaliplatina sobre o tempo de imobilidade no teste do campo aberto.



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do tempo de imobilidade (s) tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 1 ao 28. \* $P < 0,05$  versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey).

Gráfico 4 – Efeito da oxaliplatina sobre o tempo de mobilidade no teste do campo aberto.



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do tempo de mobilidade (s) tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 1 ao 28. \* $P < 0,05$  versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey).

## 6.2 Efeito da oxaliplatina no índice funcional do nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica no teste de registro da marcha.

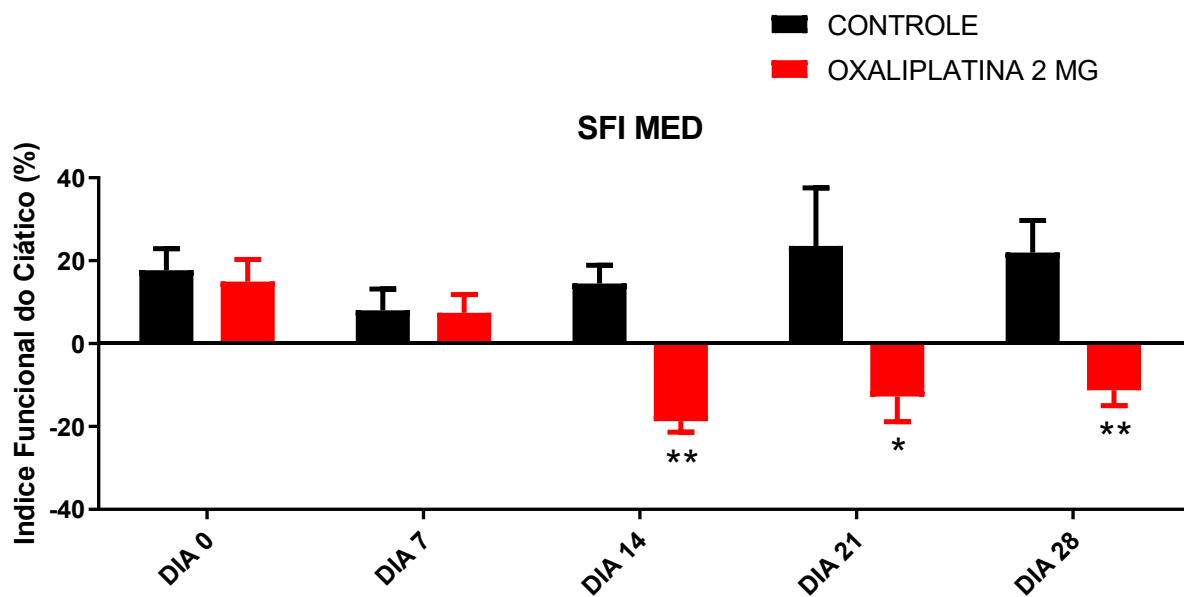
Objetivando analisar o índice funcional do nervo ciático dos animais em função do tempo, foi realizado o registro das marchas, utilizando como parâmetros a distância entre as pegadas, comprimento da pegada e o espalhamento entre os dedos das patas traseiras. Esses

valores foram aplicados na equação adaptada de De Medinaceli, obtendo-se o índice funcional do nervo ciático.

A partir dos gráficos 5 e 6, pode-se observar que houve um comprometimento significativo no grupo da oxaliplatina a partir do dia 14 em relação ao grupo controle. Esse comprometimento permaneceu até o dia 28.

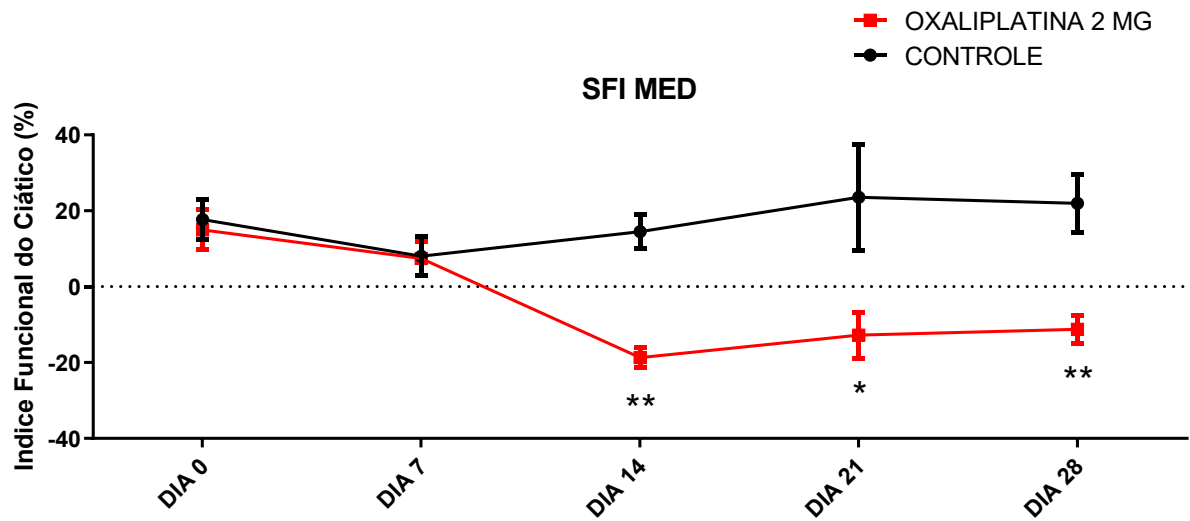
Referente ao gráfico 7, o ângulo entre as passadas dos animais do grupo oxaliplatina reduziram significativamente em comparação ao grupo controle iniciando no dia 14 e permaneceu até o dia 28.

Gráfico 5 – Efeito da oxaliplatina sobre o índice funcional do nervo ciático no teste de registro da marcha.



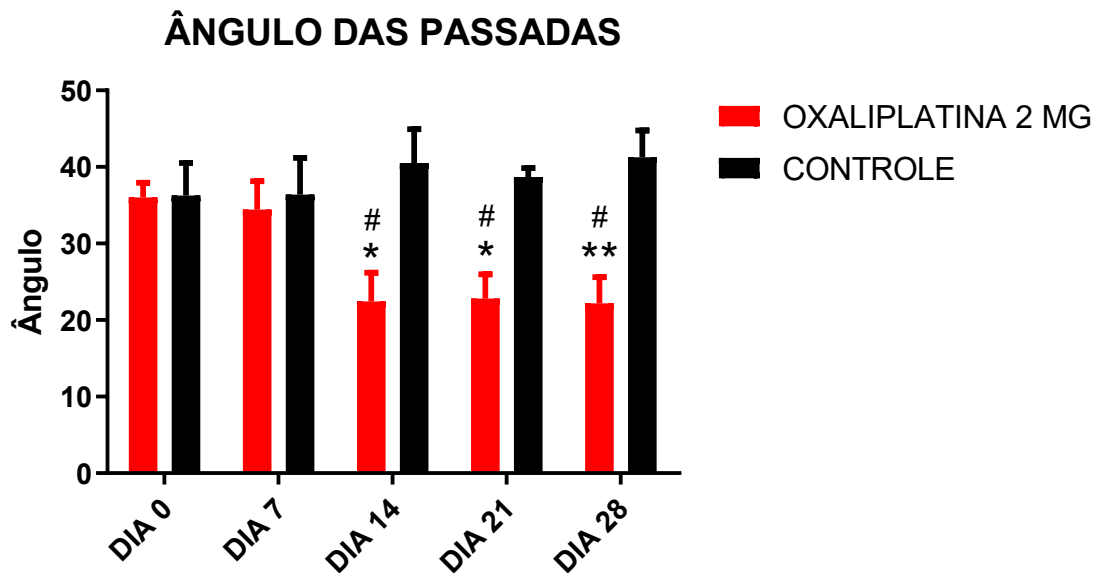
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do índice funcional do nervo ciático tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 0 ao 28. \*P < 0,05 versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Sidak).

Gráfico 6 – Efeito da oxaliplatina sobre o índice funcional do nervo ciático no teste de registro da marcha.



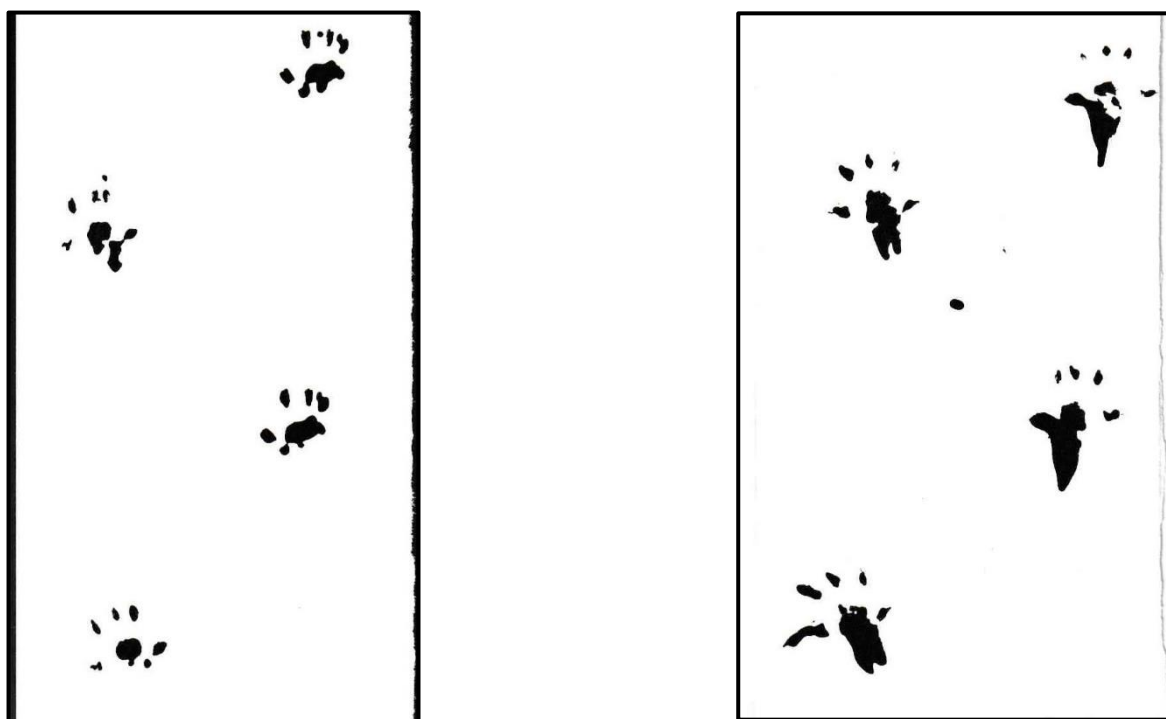
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do índice funcional do nervo ciático tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 0 ao 28. \*P < 0,05 versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Sidak).

Gráfico 7 – Efeito da oxaliplatina sobre o ângulo entre as passadas no teste de registro da marcha.



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do ângulo das passadas tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 0 ao 28. \*P < 0,05 versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Sidak).

Figura 10 – Registro da marcha dos camundongos.



Fonte: Autoria própria.

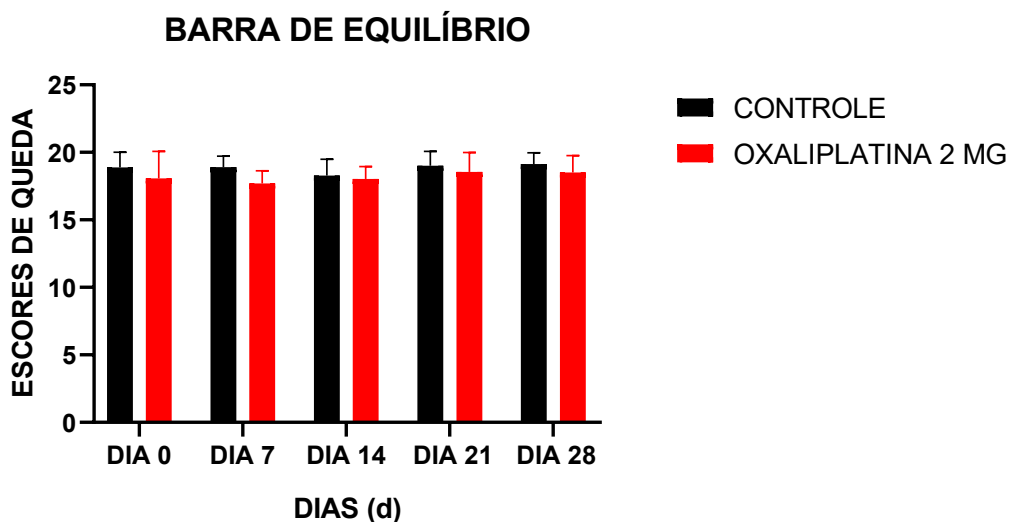
A marcha da esquerda corresponde ao animal do Grupo Controle e o da direita ao Grupo OXL.

Referente à figura 10, observa-se o padrão de pegadas do grupo controle (pegadas da esquerda) e do grupo OXL (pegadas da direita). Percebe-se que os animais do grupo oxaliplatina apresentam uma pegada arrastada e desalinhada, evidenciado pelo aumento do comprimento da pegada.

### **6.3 Efeito da oxaliplatina no equilíbrio de camundongos submetidos à neuropatia periférica no teste da barra de equilíbrio.**

No sentido de avaliar o equilíbrio dos animais, foi realizado o teste da barra de equilíbrio em que os parâmetros mensurados foram o número de quedas e de deslizos, os quais foram convertidos em escores. Conforme o Gráfico 8, observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos controle e oxaliplatina em nenhum dia.

Gráfico 8 – Efeito da oxaliplatina sobre o equilíbrio dos camundongos submetidos à neuropatia periférica.



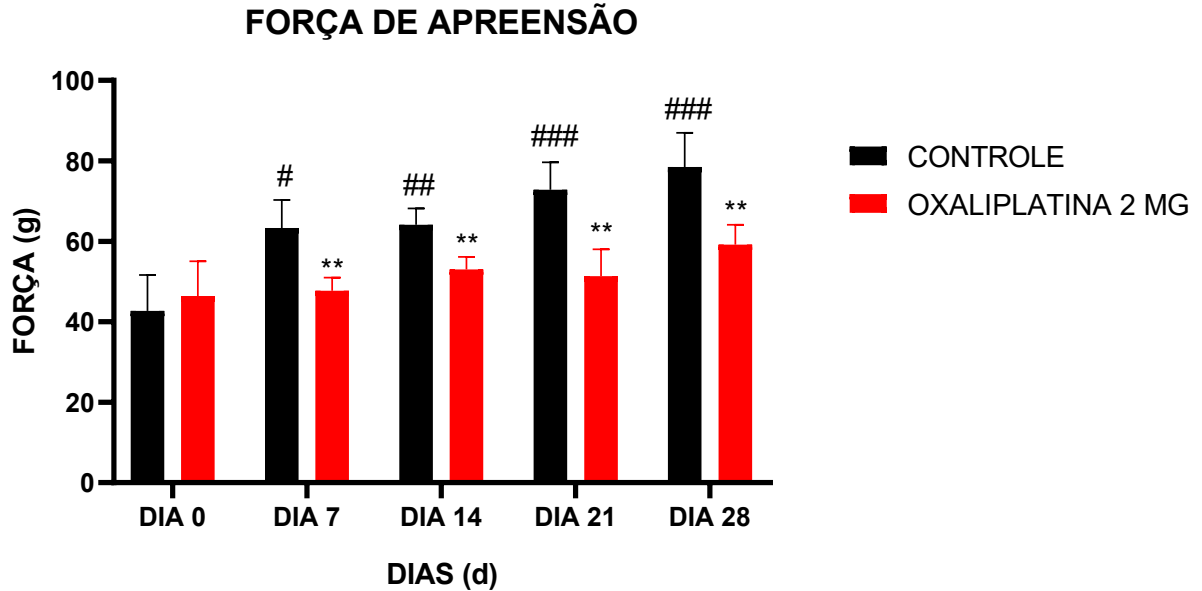
Fonte: dados da pesquisa. Os resultados são expressos como mediana de 8 animais por grupo e foram analisados pelo teste de Wilcoxon. \* $P < 0,05$  vs. grupo controle.

#### **6.4 Efeito da oxaliplatina na força e na resistência muscular de camundongos submetidos à neuropatia periférica nos teste de força de apreensão e do tempo de suspensão.**

Com o objetivo de avaliar a força e a resistência muscular dos camundongos submetidos à neuropatia periférica, foram realizados os testes de Força de Apreensão e do Tempo de Suspensão.

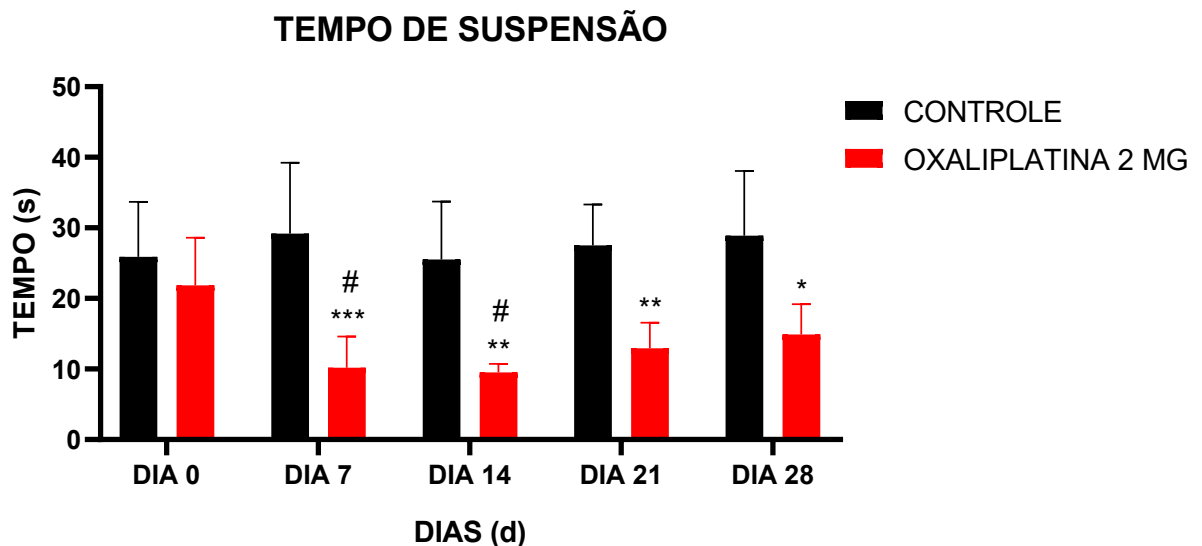
No Gráfico 9, nota-se que a força de apreensão do grupo oxaliplatina se manteve ao longo do tratamento, enquanto que a força do grupo controle aumentou do dia 7 ao dia 28. Em relação à resistência muscular, foi observada no Gráfico 10 uma redução significativa no grupo da oxaliplatina quando comparado ao grupo controle, iniciando no Dia 7 e persistiu até o Dia 28.

Gráfico 9 – Efeito da oxaliplatina sobre a força de contração dos camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM da força de apreensão tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 0 ao 28. \* $P < 0,05$  versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Sidak).

Gráfico 10 – Efeito da oxaliplatina sobre a força isométrica dos camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.



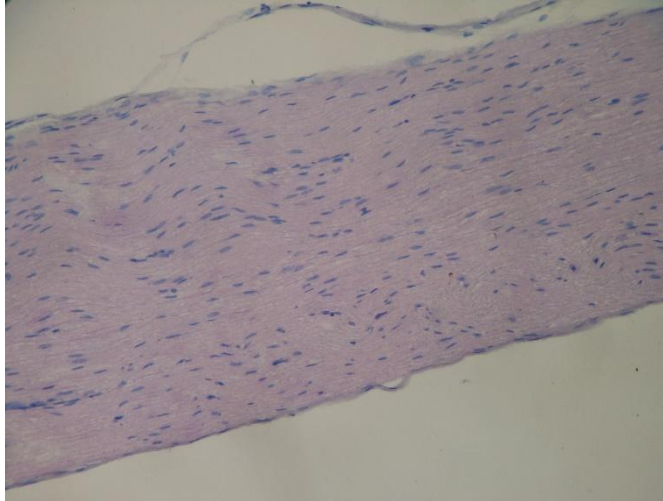
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM do tempo de suspensão tanto do grupo controle como do grupo oxaliplatina nos dias experimentais 0 ao 28. \* $P < 0,05$  versus grupo controle (ANOVA de duas vias, pós-teste de Sidak).

### **6.5 Avaliação histopatológica dos nervos ciáticos de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.**

Objetivando analisar as alterações microscópicas neuromotoras, realizou-se a coleta dos tecidos, como o nervo ciático, com a finalidade de identificar alterações estruturais e danos teciduais nervosos.

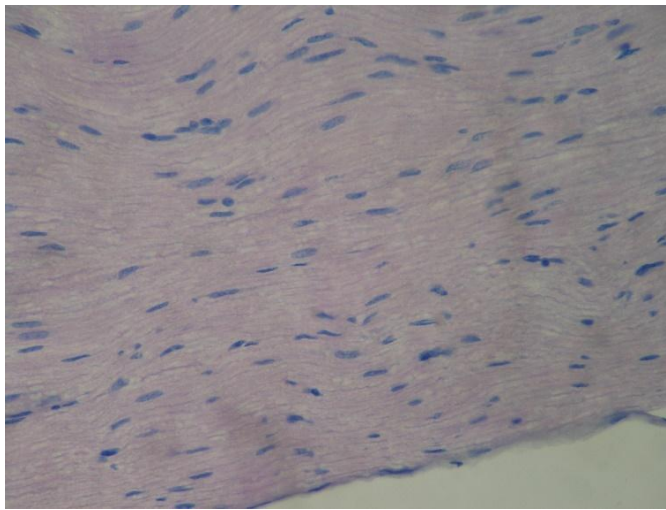
A avaliação histopatológica dos cortes longitudinais de nervos ciáticos mostra as modificações causadas pela neuropatia periférica induzida por oxaliplatina. Observa-se nas figuras 11 e 12 cortes de nervo ciático do grupo controle com a presença de fibras nervosas longitudinais íntegras, onde se visualizam o axônio, bainha de mielina, núcleos arredondados ou ovoides correspondendo às células de Schwann. Nas duas extremidades observam-se trechos com fibras em corte transversal onde se vê axônio mielínico. Há núcleos fusiformes sugestivos de fibrócitos do tecido conjuntivo do endoneuro. Em área focal, há remanescente de perineuro.

Figura 11 – Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Controle. (HE, 200x)



*Fonte: Autoria própria.*

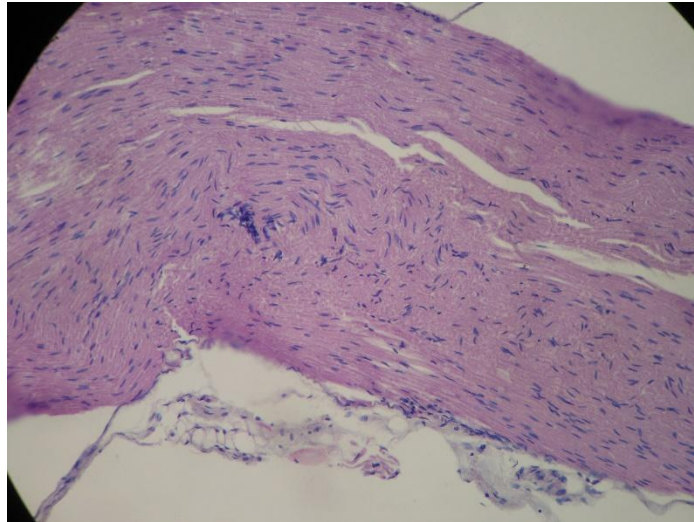
Figura 12 – Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Controle. (HE, 400x)



*Fonte: Autoria própria.*

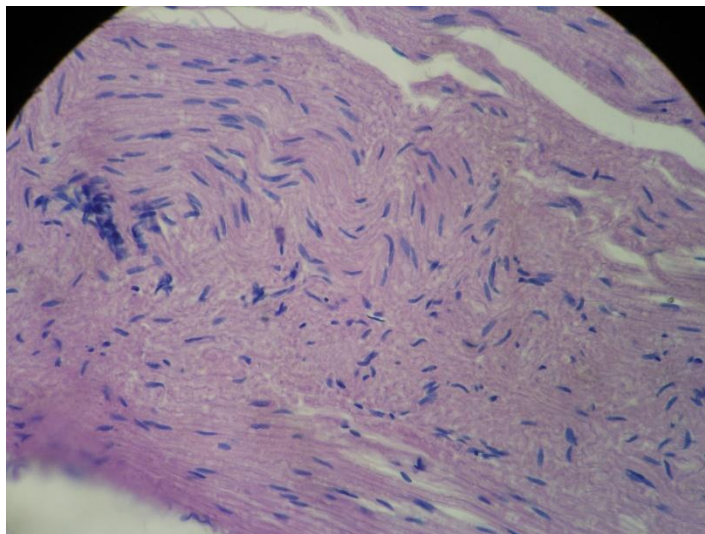
Observa-se nas figuras 13 e 14 fibras nervosas longitudinais de nervo ciático do grupo tratado com oxaliplatina onde se visualizam axônio, bainha de mielina, núcleos arredondados ou ovoides correspondendo às células de Schwann, evidenciando desorganização das fibras nervosas com aparência pálida. Em uma das extremidades, observam-se fibras em corte transversal onde se vê axônio mielínico. Há núcleos fusiformes sugestivos de fibrócitos do tecido conjuntivo do endoneuro assim como no controle. Em área focal, há remanescente de perineuro. Em toda a extensão da amostra, há células inflamatórias leucocitárias mistas com granulócitos polimorfonucleares neutrófilos, inclusive dissociando as fibras nervosas. Ademais, observa-se também uma área focal de edema.

Figura 13 – Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Oxaliplatina. (HE, 200x)



*Fonte: Aatoria própria.*

Figura 14 – Corte longitudinal do Nervo Ciático no Grupo Oxaliplatina. (HE, 400x)

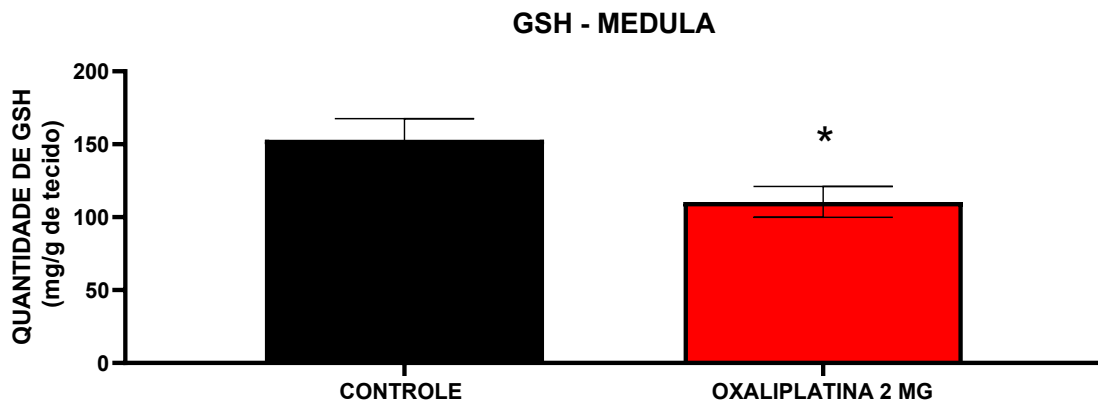


*Fonte: Aatoria própria.*

### **6.6 Efeitos da oxaliplatina no conteúdo de glutatona (GSH) no nervo ciático e na medula de camundongos submetidos à neuropatia periférica.**

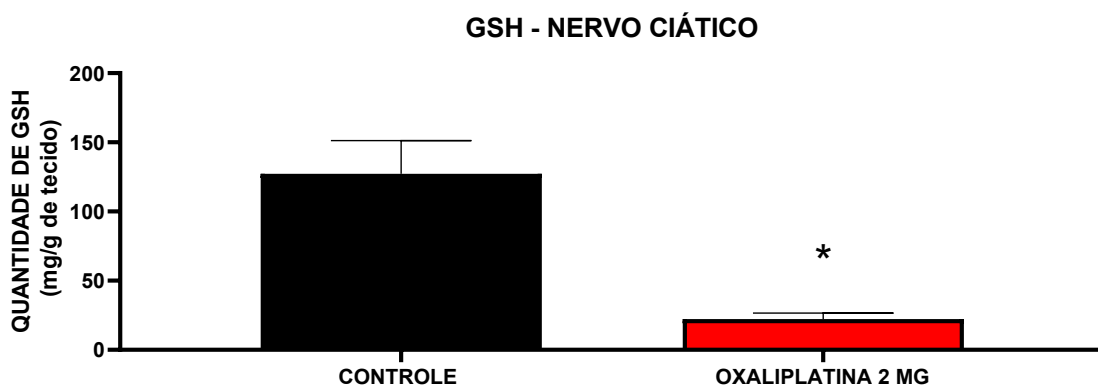
Com o intuito de avaliar o estresse oxidativo tanto na medula como no nervo ciático, realizou-se a determinação dos níveis de glutatona reduzida nesses tecidos. Observa-se tanto no Gráfico 11 bem como no Gráfico 12 que a oxaliplatina foi capaz de aumentar o consumo de GSH em ambos os tecidos analisados, sendo possível notar também que esse consumo foi bem mais intenso no nervo ciático (Gráfico 12).

Gráfico 11 – Níveis de glutatona reduzida na medula de camundongos submetidos à neuroatita periférica induzida por oxaliplatina.



Teor de glutatona reduzida (GSH) na medula. Os valores numéricos representam a Média (s) ± E.P.M. \*P < 0,05 versus grupo controle (Teste T de Student).

Gráfico 12 – Níveis de glutatona reduzida no nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.



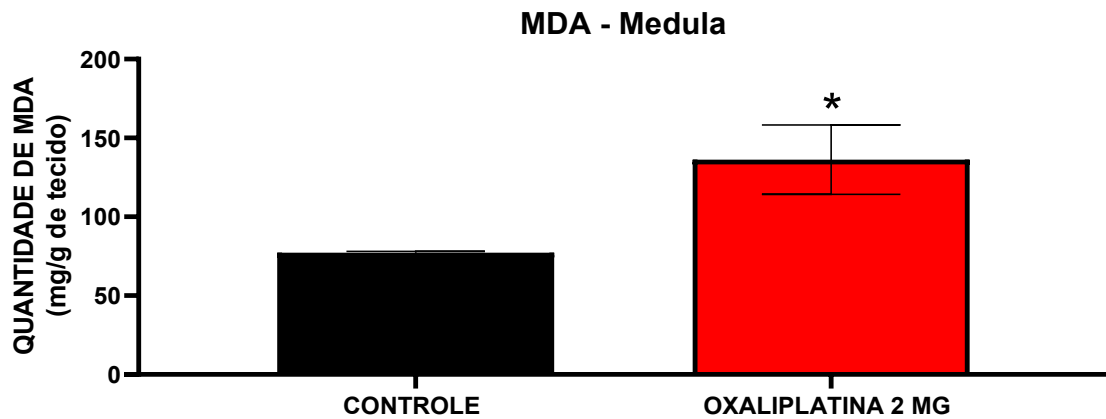
Teor de glutatona reduzida (GSH) no nervo ciático. Os valores numéricos representam a Média (s) ± E.P.M. \*P < 0,05 versus grupo controle (Teste T de Student).

### **6.7 Efeitos da oxaliplatina sobre a peroxidação de lipídios (ensaio TBARS) na medula e no nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica.**

Com o intuito de avaliar a peroxidação lipídica associada ao estresse oxidativo tanto na medula como no nervo ciático, realizou-se a determinação de malondialdeído (mg/g) nesses tecidos. Conforme o gráfico 13 e 14, é possível afirmar que a oxaliplatina foi capaz de aumentar esse marcador em ambos os tecidos analisados com diferença significativa em

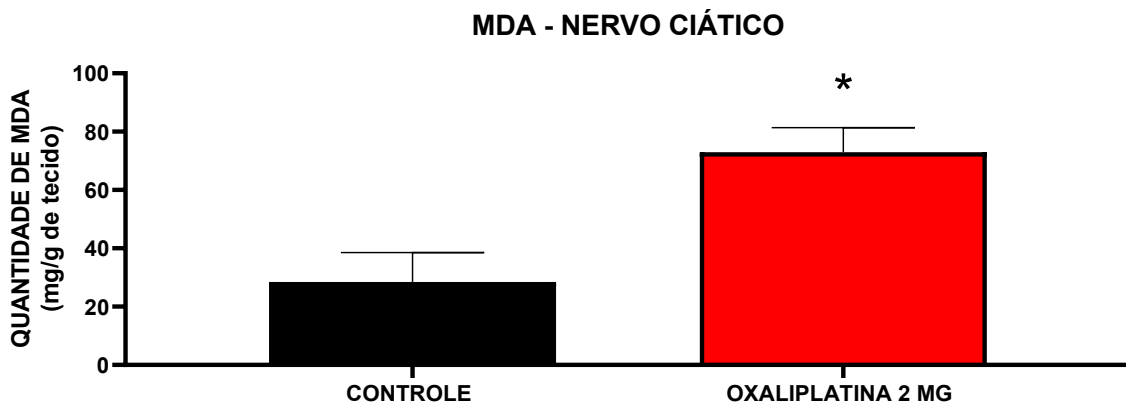
relação ao grupo controle.

Gráfico 13 – Níveis de malondialdeído no ensaio TBARS na medula de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.



Teor de malondialdeído (MDA) na medula. Os valores numéricos representam a Média (s)  $\pm$  E.P.M. \*P < 0,05 versus grupo controle (Teste T de Student).

Gráfico 14 – Níveis de malondialdeído no ensaio TBARS no nervo ciático de camundongos submetidos à neuropatia periférica induzida por oxaliplatina.



Teor de malondialdeído (MDA) no nervo ciático. Os valores numéricos representam a Média (s)  $\pm$  E.P.M. \*P < 0,05 versus grupo controle (Teste T de Student).

## 7. DISCUSSÃO

A oxaliplatina, análogo da platina de terceira geração, é um quimioterápico antineoplásico considerada como primeira linha de tratamento do câncer colorretal metastático e como adjuvante no tratamento do câncer colorretal, de mama, de ovário, de estômago e dentre outros. Apesar dos seus benefícios clínicos em prolongar a sobrevida dos pacientes, a neurotoxicidade causada por esse quimioterápico torna-se limitante em alguns tratamentos, prejudicando dessa forma a eficácia antineoplásica. Essa neurotoxicidade induzida pela oxaliplatina é manifestada nos pacientes como uma neuropatia periférica, sendo os sintomas sensitivos, como hipersensibilidade ao frio, parestesias e disestesias, os mais proeminentes. Contudo, mesmo sendo pouco explorado, alguns estudos apontam a influência da oxaliplatina nas alterações motoras, todavia os mecanismos envolvidos ainda são desconhecidos e poucos estudos se propõe a elucidá-los (SCAGLIOTTI, 2005; VALERIO, 2006; KIM, 2013).

Dessa forma, o presente estudo buscou estudar mais detalhadamente as alterações motoras causadas pela neurotoxicidade da oxaliplatina em camundongos. Para isso, foi utilizado o protocolo de indução da neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina de acordo com os estudos de Azevedo et al. (2013) desenvolvido no LAFICA. Buscou-se analisar se esse mesmo modelo que induz a neuropatia sensitiva, também possibilitaria estudar alterações ou disfunções motoras, pois já é um modelo bem estabelecido na literatura. Neste estudo foram realizados testes comportamentais, bioquímicos e histopatológicos para avaliar as alterações motoras causadas pela oxaliplatina em camundongos.

Primeiramente, foi investigado no teste de campo aberto a influência da OXL na capacidade motora, no comportamento exploratório dos animais. Neste estudo, foi observado que os animais tratados com oxaliplatina apresentaram um comportamento exploratório reduzido, o qual foi observado a partir da redução do número de levantamentos e de cruzamentos entre os quadrantes, além do aumento do tempo de imobilidade. Tais resultados sugerem que a redução da atividade exploratória do animal está atrelado tanto ao quadro de dor neuropática como também à redução da capacidade motora.

Estudos eletrofisiológicos apontam que a OXL é responsável por reduzir tanto a velocidade de condução do nervo ciático como também o MUNE (Número estimado de unidades motoras) e CMAP (Potencial de ação muscular composto), parâmetros importantes na avaliação da força muscular, portanto isso pode possivelmente explicar, porque o animais

submetidos a esse teste apresentam uma redução na exploração associada provavelmente a uma perda na condução do estímulo motor (KRIZ, 2000; GOOCH, 2000; SHEFNER, 2003; TALEB, 2017).

Vale ressaltar ainda que o próprio quadro de dor neuropática influencia diretamente na atividade exploratória do animal, em que estes tendem a apresentar um comportamento mais recluso quando são submetidos à dor crônica, como foi observado nos estudos de Lees et. al. (2021). As parestesias e a alodinia mecânica bem como a perda da propriocepção, sintomas presentes na neuropatia periférica, induzem uma inibição comportamental, uma vez que pequenos movimentos ou toques são interpretados como um sinal nociceptivo de modo que o animal se condiciona a permanecer grande parte do tempo imóvel (FEATHER, 2018; LEES, 2021). Portanto, fraqueza muscular, fadiga e alterações na propriocepção e o quadro de dor crônica contribuem na redução do comportamento exploratório do animal observado no teste de campo aberto.

No teste da barra de equilíbrio, foi observado que os danos causados pela oxaliplatina não foram suficientes para causar alterações no equilíbrio dos animais de modo que os resultados obtidos tanto no grupo controle como no grupo OXL foram parecidos, ou seja, os animais de ambos os grupos conseguiram realizar o percurso com o mínimo de quedas. Outro teste utilizado para avaliar o desempenho motor é o teste de Rota-Rod, o qual é possível também inferir a coordenação motora dos animais. De acordo com os estudos realizados por Pereira et. al. (2019), os resultados alcançados não apresentaram diferença significativa entre os animais do grupo da OXL e do grupo controle no teste de rota rod, ou seja, a OXL não causou alterações no desempenho motor dos camundongos (PEREIRA, 2019; LEES, 2021).

Contudo, é possível que o teste de rota-rod não tenha sensibilidade metodológica adequada para detectar alterações sutis no equilíbrio dos camundongos assim como foi observado no estudo realizado por Lees e colaboradores (LEES, 2021). Em contrapartida, de acordo com os resultados encontrados por Taleb et. al. (2017), foi possível detectar alterações na coordenação motora causadas pela OXL no teste da barra de equilíbrio. Essa divergência entre os resultados do atual estudo com os do Taleb et. al. (2017) pode ser explicada pelas diferenças metodológicas no mesmo teste, como espessura e comprimento da barra, dose da OXL e os animais utilizados, influenciando diretamente na sensibilidade metodológica. No teste realizado por Taleb, foram utilizados ratos (Sprague Dawley) o qual a dose da OXL administrada foi de 4 mg/Kg (dose cumulativa de 32 mg/Kg), além de ser utilizada uma barra

com 1 metro de comprimento e 3 cm de largura, enquanto que no nosso experimento foram utilizados camundongos o qual a dose de OXL administrada foi de 2 mg/Kg (dose cumulativa de 18 mg/Kg) e a barra utilizada tinha 80 cm de comprimento e 5 cm de largura (TALEB, 2017).

Portanto, essas diferenças encontradas influenciam diretamente na sensibilidade metodológica, sendo necessário refinar o teste para que seja possível detectar essas alterações na coordenação motora dos animais, pois estudos clínicos apontam que os pacientes submetidos a quimioterapia com oxaliplatina apresentam um maior risco de quedas, estando relacionado também à perda do equilíbrio (TOFTHAGEN, 2012). Ademais, vale salientar que muitos fatores estão envolvidos no aumento da incidência de quedas nesses pacientes, além da própria alteração no equilíbrio. Pode-se citar que a perda da bradicinesia, alterações na marcha e a perda da propriocepção também estão relacionadas. (PAPEL, 2021; ZAREI, 2022) Tendo isso em vista, foram realizados testes que buscam avaliar a força e a resistência muscular dos animais bem como alterações na marcha de modo a melhor representar as manifestações clínicas encontradas nesses pacientes oncológicos.

Neste estudo, foi demonstrado num modelo de polineuropatia que a oxaliplatina causa um prejuízo na atividade do nervo ciático de forma que os animais que receberam o quimioterápico apresentaram uma redução significativa tanto do índice funcional do nervo ciático como do ângulo das passadas a partir do dia 14 até o dia 28. A partir dos estudos realizados por DeMedinaceli, é possível determinar o IFC a partir da análise dos parâmetros obtidos pelo registro das pegadas dos camundongos com neuropatia unilateral (DE MEDINACELI, FREED & WYATT, 1982).

No presente estudo, foi necessário realizar uma adaptação da equação proposta por DeMedinaceli, sendo possível dessa forma observar a influência da OXL no nervo ciático, através deste modelo adaptado. A equação de DeMedinaceli foi elaborada tendo como base um modelo de mononeuropatia, através do esmagamento do nervo ciático direito, enquanto que o nervo ciático esquerdo era considerado como parâmetro de controle do próprio animal. Considerando que o modelo do atual estudo é de polineuropatia, ou seja, ambos os nervos ciáticos estarão comprometidos pelo quimioterápico, foi necessário utilizar como parâmetro de controle os valores basais obtidos antes de iniciar as administrações da oxaliplatina, os quais foram utilizados na nova equação adaptada (DE MEDINACELI, FREED & WYATT, 1982).

Dentre os possíveis mecanismos envolvidos, pode-se mencionar a

hipomielinização do nervo ciático causada pela OXL. De acordo com os estudos de Tsutsumi et. al. (2014), foi observado que a OXL reduziu os níveis da proteína básica da mielina no nervo ciático, principal proteína envolvida no processo de mielinização dos nervos periféricos, além de reduzir a razão-g, parâmetro utilizado na avaliação da mielinização tendo como base a razão entre o diâmetro da fibra e do axônio. (TSUTSUMI, 2014)

Além da desmielinização, foi demonstrado também que a OXL pode desencadear eventos moleculares relacionados à hipoxia no microambiente do nervo ciático, através do aumento da expressão do Fator Tecidual (FT) e, conseqüentemente, no aumento de fatores induzíveis por hipóxia (HIFs). O estresse oxidativo gerado pela OXL nesses tecidos orquestram a via de ativação TLR-4-p38 que por sua vez promove a superexpressão de FT. Tais eventos favorecem a expressão de citocinas, como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e metaloproteinases de matriz (MMPs), envolvidas na sensibilização do nervo ciático (YANG, 2019).

A indução da apoptose dos neurônios do nervo ciático pela oxaliplatina constitui outro potencial mecanismo que explica a disfunção do ciático observada a partir das alterações na marcha dos animais, confirmada pela redução do índice funcional do ciático. De acordo com Celik et. al. (2020), a OXL aumentou a expressão de caspase-3 como também do MAPK14 no nervo ciático, ocasionando a sua apoptose. Sabe-se que a apoptose é um processo de morte celular programada importante na manutenção da homeostase celular que depende principalmente da expressão das caspases. A caspase-3 é responsável por induzir a apoptose de tecidos por intermédio da ativação da caspase-8 e caspase-9 na presença de sinais pró-apoptóticos. Contudo quando se encontra disfuncional, desenvolve-se vários processos patológicos. Nesse contexto, os danos gerados no nervo ciático podem ser explicados em parte pelo aumento da apoptose nesses tecidos, através da suprerregulação da caspase-3 e do seu ativador MAPK14 mediado pela OXL (CELIK, 2020).

Diante disso, a hipomielinização, o aumento da apoptose e a sensibilização mediada por HIFs do nervo ciático promovida pela OXL provavelmente estão envolvidas na redução da sua função, o qual foi observado na avaliação da marcha no presente estudo. Esses resultados estão de acordo com a realidade observada na clínica, em que os pacientes relatam perda de equilíbrio e alterações na marcha que contribuem consideravelmente para o aumento do risco de quedas, contudo tais sintomas acabam sendo negligenciados na clínica (HILL, 2010; TOFTHAGEN, 2021). Métodos eletrofisiológicos constatarem também hiperexcitabilidade de fibras motoras e perda axonal de neurônios sensitivos e motores nos

pacientes em uso da OXL e que essa perda persiste mesmo após a sua suspensão, ou seja, possivelmente irreversível (BURAKGAZI, 2011).

Além das alterações no índice funcional do nervo ciático, observou-se também, através dos testes da força de apreensão e do tempo de suspensão, que a OXL foi capaz de reduzir significativamente a resistência muscular e evitou o aumento da força muscular dos animais que receberam esse quimioterápico comparado ao grupo controle a partir do dia 7, e tais efeitos persistiram até o dia 28. É interessante notar que esse sintoma motor apareceu antes dos sintomas sensitivos avaliados através de testes comportamentais mecânicos e térmicos observados no estudo de Pereira et. al. (2020) em que os sintomas sensitivos apareceram a partir do dia 14.

O teste de força de apreensão tem como finalidade determinar a força de contração que o animal exerce sobre a plataforma quando é tracionado para trás pela cauda, sendo essa força medida em gramas. Enquanto que o teste do tempo de suspensão avalia a resistência, em segundos, que o animal consegue permanecer agarrado à grade contra a gravidade. A partir dos resultados obtidos, nota-se que a oxaliplatina evitou o ganho da força muscular, enquanto que no grupo controle o ganho da força muscular foi observado do dia 7 ao dia 28. Estudos realizados por Taleb et. al. (2017) observaram uma redução da força muscular no grupo da oxaliplatina a partir da segunda semana de tratamento (TALEB, 2017).

A perda da força e da resistência muscular podem estar associadas tanto aos danos diretos da oxaliplatina no músculo esquelético como também nos neurônios motores que inervam tais músculos. Referente à influência da OXL nos neurônios motores, estudos eletrofisiológicos mostram que o número de unidades motoras, ou seja, o número de neurônios motores ou axônios que inervam o único músculo, foram significativamente reduzidos após o tratamento com a OXL (KRIZ, 2000; TALEB, 2017). Além disso, observou-se também um prejuízo no CMAP, havendo uma maior duração e dispersão do potencial de ação e, conseqüentemente, influenciando na recuperação muscular (TALEB, 2017). Além disso, o estudo realizado por Lees e colaboradores (2021) demonstraram que a OXL foi responsável por reduzir a massa do músculo sóleo, gastrocnêmio e tibial anterior, portanto reforçando a perda da força e da resistência muscular encontrada em nossos estudos (LEES, 2021). E a pesquisa realizada por Makker et. al. (2020) ainda complementa que a OXL pode exercer alterações agudas na excitabilidade do nervo motor e sensorial quando administrada pela via intramuscular, ou seja, exercendo efeitos diretos nesses tecidos. (MAKKER, 2020)

Diante disso, a axonopatia, a atrofia muscular bem como a própria

desmielinização nervosa podem estar envolvidas no prejuízo desses parâmetros eletrofisiológicos, ocasionando a redução da condução nervosa e acarretando na fraqueza muscular observada nesse estudo.

Ainda nesse contexto, esses efeitos podem ser explicados possivelmente pelo acúmulo da OXL nos neurônios motores, através do transportador OCT-2, o mesmo envolvido no transporte desse quimioterápico para dentro dos DRGs, assim como foi demonstrado nos estudos de Sprowl et. al. (2013). Os OCT-2 estão expressos também nos neurônios motores, desempenhando o papel de reciclar a acetilcolina na junção neuromuscular dos terminais nervosos colinérgicos (NAKATA, 2013). Desta forma, o acúmulo da OXL nos neurônios motores possivelmente é mediado por esse transportador, desencadeando nesses tecidos hipomielinização, axonopatia, mitotoxicidade e o próprio efeito citotóxico do agente alquilante assim como ocorre em tecidos, como gânglios da raiz dorsal, medula e gânglio trigeminal (SPROWL, 2013; TALEB, 2017; ROBERT, 2022).

Com o intuito de esclarecer e reforçar os resultados encontrados nos testes comportamentais, foi realizada a avaliação histopatológica e bioquímica do nervo ciático dos animais tratados com OXL.

A partir da avaliação histopatológica desse tecido, foi possível demonstrar que a OXL foi responsável por causar alterações estruturais no nervo ciático, sendo evidenciada pela presença de fibras nervosas desorganizadas com células inflamatórias leucocitárias mistas, incluindo granulócitos polimorfonucleares neutrofilicos, além de apresentar área focal com edema. Tais achados corroboram com os estudos de Celik et. al. (2020), o qual foi observado também vacuolizações dos axônios, fibras nervosas irregulares e degenerações da mielina, além do edema axonal (CELIK, 2020).

Como já foi discutido, a OXL cria um microambiente inflamatório, através do dano direto ao tecido pelo seu mecanismo alquilante ou por outras vias, como as relacionadas à hipóxia, TLR-4 e o próprio estresse oxidativo, que favorece o recrutamento de células leucocitárias, como foi observado anteriormente (CELIK, 2020). Além disso, estudos anteriores demonstram que a axonopatia possa estar associada ao efeito da oxaliplatina na redução da expressão do neurofilamento 200 (NF200) nas fibras motoras do nervo ciático. O NF200 é uma proteína importante na manutenção da morfologia das células neuronais, portanto a sua infrarregulação causada pela OXL pode estar atrelada aos achados encontrados na avaliação histopatológica, como fibras nervosas irregulares e degeneração da mielina (MEYER, 2011; TALEB, 2017).

Aliado a isso, a desmielinização está relacionada também à redução da expressão do gene neuregulina 1 (NRG1), um importante fator de regulação da mielinização do sistema nervoso periférico. De acordo com os estudos de Tsutsumi et. al. (2014), a OXL foi capaz de reduzir quase 60% da expressão desse gene no nervo ciático (TSUTSUMI, 2014). Portanto, diferentes mecanismos podem contribuir nas alterações histopatológicas causadas pela oxaliplatina no nervo ciático e que os achados encontrados nesse estudo são condizentes com os estudos anteriores (MEYER, 2011; TSUTSUMI, 2014).

É bem estabelecido que um dos mecanismos envolvidos na neurotoxicidade da oxaliplatina é oriundo do estresse oxidativo causado pelo próprio efeito alquilante do quimioterápico em tecidos, como na medula, nos gânglios da raiz dorsal e, como foi observado nesse estudo, no nervo ciático (DI CESARE, 2012; AZEVEDO, 2013; WASEEM, 2015; CELIK, 2020). Os resultados do presente estudo mostraram que a OXL reduziu os níveis de GSH tanto na medula como no nervo ciático, enquanto que os níveis de MDA foram elevados nesses tecidos.

Sabe-se que o GSH, um antioxidante não-enzimático, desempenha um papel como fator endógeno protetor do estresse oxidativo, evitando danos celulares e inibindo os efeitos das espécies reativas de oxigênio. Enquanto que o MDA é um importante marcador do estresse oxidativo, por ser um dos produtos oriundos da peroxidação dos lipídeos de membranas das células do sistema nervoso, além de estar associado aos distúrbios nas mitocôndrias. Nesse contexto, a exaustão das moléculas antioxidantes causada pelo acúmulo excessivo de moléculas pró-oxidantes resultará no desequilíbrio redox, desencadeando o estresse oxidativo (SCHRADER, 2006; ARETI, 2014).

Esses achados estão condizentes com os resultados obtidos por Imai et. al. (2017), o qual demonstrou que a OXL apresentou efeitos citotóxicos diretos acompanhados por disfunção mitocondrial às células de Schann, resultando provavelmente na instabilidade da mielina e posterior desmielinização, o qual foi reforçado pelos resultados obtidos na avaliação histopatológica (IMAI, 2017). Além das alterações observadas nas mitocôndrias, estudos demonstram que a OXL também causa alterações no retículo endoplasmático (RE), devido ao aumento da expressão de genes, como ATF6 e IRE1, envolvidos na indução do estresse oxidativo tanto no cérebro como no nervo ciático, estando de acordo com os resultados obtidos dos marcadores no atual estudo (CELIK, 2020). Aliado a isso, a ativação de vias inflamatórias favorecem a criação de um microambiente com altos níveis de fatores pró-oxidantes que favorecem o desenvolvimento do estresse oxidativo (JOSEPH, 2004;

TRECARICHI, 2019). De acordo com os estudos de Celik et. al. (2020), a OXL foi responsável pela superregulação de NF- $\kappa$ B e com consequente aumento do TNF- $\alpha$  tanto no cérebro como no nervo ciático, favorecendo esse ambiente inflamatório e oxidativo (CELIK, 2020). No estudo de Azevedo et. al. (2020), foi possível observar que flavonoides, potentes antioxidantes, foram capazes de atenuar o quadro neuropático induzido por oxaliplatina em camundongos, observado nos testes sensitivos e comportamentais (AZEVEDO, 2013). Portanto, nota-se que o estresse oxidativo é um dos mecanismos envolvidos na neuropatia sensitiva periférica e que potencialmente está associada também aos distúrbios motores observados no atual estudo.

Neste trabalho, foi observado que a oxaliplatina reduziu a atividade exploratória, observada no teste de campo aberto, e a força e a resistência muscular, analisado a partir do teste da força de apreensão e do tempo de suspensão, dos camundongos. Apesar da sensibilidade do teste da barra de equilíbrio não ter sido suficiente para detectar alterações no equilíbrio dos camundongos, foi observado que o análogo da platina foi responsável por gerar alterações na marcha desses animais, a partir da redução do índice funcional do nervo ciático. Os danos oriundos dos efeitos da OXL nesse tecido foram confirmados na avaliação histopatológica, o qual foi confirmado a presença de células pró-inflamatórias, desorganização de fibras nervosas e edemas no nervo ciático. Dentre os possíveis mecanismos envolvidos, este estudo destaca o potencial estresse oxidativo causado por esse quimioterápico, onde foi observado um desequilíbrio de GSH e de MDA nesse tecido. Dentre as limitações do atual estudo, importante mencionar a necessidade de refinar a metodologia do teste da barra de equilíbrio, além de analisar a reprodutibilidade da avaliação da marcha no modelo de polineuropatia induzida por oxaliplatina. E por fim, recomenda-se que nos próximos estudos seja realizado o corte transversal do nervo ciático na análise histopatológica para se obter mais parâmetros, como o grau de desmielinização.

## 8. CONCLUSÃO

Diante disso, pode-se concluir que a neurotoxicidade causada pela OXL foi responsável por causar um comprometimento motor dos animais tratados com esse quimioterápico, confirmado a partir da diminuição do comportamento exploratório, das alterações na marcha com redução do índice funcional do nervo ciático e da redução da força e da resistência muscular, sem alterações do equilíbrio dos camundongos. Dentre os possíveis mecanismos envolvidos, pode-se citar as alterações estruturais do nervo ciático e potencialmente o estresse oxidativo desencadeado pelo quimioterápico no nervo ciático e na medula dos animais com neuropatia periférica.

## 9. REFERÊNCIAS

AARONSON, Neil K. et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A Quality-of-Life Instrument for Use in International Clinical Trials in Oncology. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, [S. l.], v. 85, n. 5, p. 365–376, 1993. DOI: 10.1093/JNCI/85.5.365. Disponível em: <https://academic.oup.com/jnci/article/85/5/365/972260>.

ABDEL-RAHMAN, Omar. Revisiting oxaliplatin-based regimens for advanced hepatocellular carcinoma. **Current Oncology Reports**, [S. l.], v. 16, n. 8, p. 14–16, 2014. DOI: 10.1007/s11912-014-0394-0.

ALBERTI, Paola et al. Topiramate prevents oxaliplatin-related axonal hyperexcitability and oxaliplatin induced peripheral neurotoxicity. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 164, p. 107905, 2020. DOI: 10.1016/J.NEUROPHARM.2019.107905.

ALCINDOR, T.; BEAUGER, N. Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy. **Current Oncology**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 18, 2011. DOI: 10.3747/CO.V18I1.708. Disponível em: /pmc/articles/PMC3031353/.

ARETI, Aparna; YERRA, Veera Ganesh; NAIDU, VGM G. M.; KUMAR, Ashutosh. Oxidative stress and nerve damage: Role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. **Redox Biology**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 289, 2014. DOI: 10.1016/J.REDOX.2014.01.006. Disponível em: /pmc/articles/PMC3909836/.

ARGYRIOU, A. A.; ZOLOTA, V.; KYRIAKOPOULOU, O.; et al. Toxic peripheral neuropathy associated with commonly used chemotherapeutic agents. **Journal of B.U.ON.**, 2010.

AUTHIER, Nicolas; BALAYSSAC, David; MARCHAND, Fabien; LING, Bing; ZANGARELLI, Aude; DESCOEUR, Juliette; COUDORE, François; BOURINET, Emmanuel; ESCHALIER, Alain. Animal models of chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathies. **Neurotherapeutics**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 620, 2009. DOI: 10.1016/J.NURT.2009.07.003. Disponível em: /pmc/articles/PMC5084284/.

AVAN, Abolfazl; POSTMA, Tjeerd J.; CERESA, Cecilia; AVAN, Amir; CVALETTI, Guido; GIOVANNETTI, Elisa; PETERS, Godefridus J. Platinum-Induced Neurotoxicity and Preventive Strategies: Past, Present, and Future. **The Oncologist**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 411, 2015. DOI: 10.1634/THEONCOLOGIST.2014-0044. Disponível em: /pmc/articles/PMC4391771/.

AZEVEDO, Maria I.; PEREIRA, Anamaria F.; NOGUEIRA, Ricardo B.; ROLIM, Flávio E.; BRITO, Gerly A. C.; WONG, Deysi Viviana T.; LIMA-JÚNIOR, Roberto C. P.; DE ALBUQUERQUE RIBEIRO, Ronaldo; VALE, Mariana L. The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. **Molecular Pain**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 53, 2013. DOI: 10.1186/1744-8069-9-53. Disponível em: /pmc/articles/PMC3835704/.

BALAYSSAC, David; FERRIER, Jérémy; PEREIRA, Bruno; GILLET, Brigitte; PÉTORIN, Caroline; VEIN, Julie; LIBERT, Frédéric; ESCHALIER, Alain; PEZET, Denis. Prevention of

oxaliplatin-induced peripheral neuropathy by a polyamine-reduced diet—NEUROXAPOL: protocol of a prospective, randomised, controlled, single-blind and monocentric trial. **BMJ Open**, [S. l.], v. 5, n. 4, 2015. DOI: 10.1136/BMJOPEN-2014-007479. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4390686/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2604390686/).

BEIJERS, A. J. M.; BONHOF, C. S.; MOLS, F.; OPHORST, J.; DE VOS-GEELLEN, J.; JACOBS, E. M. G.; VAN DE POLL-FRANSE, L. V.; VREUGDENHIL, G. Multicenter randomized controlled trial to evaluate the efficacy and tolerability of frozen gloves for the prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Annals of Oncology**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 131–136, 2020. DOI: 10.1016/J.ANNONC.2019.09.006.

BEIJERS, A. J. M.; MOLS, F.; VREUGDENHIL, G. A systematic review on chronic oxaliplatin-induced peripheral neuropathy and the relation with oxaliplatin administration. **Supportive Care in Cancer**, [S. l.], v. 22, n. 7, p. 1999–2007, 2014. DOI: 10.1007/S00520-014-2242-Z/TABLES/4. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00520-014-2242-z>.

BENNETT, Michael. The LANSS Pain Scale: the Leeds assessment of neuropathic symptoms and signs. *Pain*, [S. l.], v. 92, n. 1–2, p. 147–157, 2001. DOI: 10.1016/S0304-3959(00)00482-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11323136/>.

BRUNER, Deborah Watkins; BARSEVICK, Andrea; TIAN, Chunqiao; RANDALL, Marcus; MANNEL, Robert; COHN, David E.; SOROSKY, Joel; SPIRTOS, Nick M. Randomized trial results of quality of life comparing whole abdominal irradiation and combination chemotherapy in advanced endometrial carcinoma: A gynecologic oncology group study. *Quality of Life Research* 2006 16:1, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 89–100, 2006. DOI: 10.1007/S11136-006-9003-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11136-006-9003-5>.

CAROZZI, V. A.; CANTA, A.; CHIORAZZI, A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 596, p. 90–107, 2015. DOI: 10.1016/J.NEULET.2014.10.014.

CAUDLE, Robert M.; NEUBERT, John K. Effects of Oxaliplatin on Facial Sensitivity to Cool Temperatures and TRPM8 Expressing Trigeminal Ganglion Neurons in Mice. *Frontiers in Pain Research*, [S. l.], v. 3, p. 868547, 2022. DOI: 10.3389/FPAIN.2022.868547. Disponível em: [/pmc/articles/PMC9130462/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39130462/). Acesso em: 6 nov. 2022.

Chisari E, Wouthuyzen-Bakker M, Friedrich AW, Parvizi J. The relation between the gut microbiome and osteoarthritis: A systematic review of literature. **PLoS One**. 2021 Dec 16;16(12):e0261353. doi: 10.1371/journal.pone.0261353. PMID: 34914764; PMCID: PMC8675674.

CREMOLINI, Chiara et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: Updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. **The Lancet Oncology**, [S. l.], v. 16, n. 13, p. 1306–1315, 2015. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00122-9. Disponível em: <http://www.thelancet.com/article/S1470204515001229/fulltext>.

CULY, C. R.; CLEMETT, D.; WISEMAN, L. R. Oxaliplatin: A review of its pharmacological properties and clinical efficacy in metastatic colorectal cancer and its potential in other malignancies. **Drugs**, [S. l.], v. 60, n. 4, p. 895–924, 2000. DOI: 10.2165/00003495-200060040-00005.

DEUIS, Jennifer R.; ZIMMERMANN, Katharina; ROMANOVSKY, Andrej A.; POSSANI, Lourival D.; CABOT, Peter J.; LEWIS, Richard J.; VETTER, Irina. An animal model of oxaliplatin-induced cold allodynia reveals a crucial role for Nav1.6 in peripheral pain pathways. **Pain**, [S. l.], v. 154, n. 9, p. 1749, 2013. DOI: 10.1016/J.PAIN.2013.05.032. Disponível em: <http://pmc/articles/PMC3748219/>.

DI CESARE MANNELLI, Lorenzo; ZANARDELLI, Matteo; FAILLI, Paola; GHELARDINI, Carla. Oxaliplatin-induced neuropathy: Oxidative Stress as Pathological Mechanism. Protective Effect of Silibinin. **Journal of Pain**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 276–284, 2012. DOI: 10.1016/j.jpain.2011.11.009. Disponível em: <http://www.jpain.org/article/S1526590011009096/fulltext>.

EGASHIRA, Nobuaki; HIRAKAWA, Shingo; KAWASHIRI, Takehiro; YANO, Takahisa; IKESUE, Hiroaki; OISHI, Ryoza. Mexiletine reverses Oxaliplatin-Induced neuropathic pain in rats. **Journal of Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 112, n. 4, p. 473–476, 2010. DOI: 10.1254/jphs.10012SC.CODE, Study. Plus Fluoropyrimidine (Tree1 Study) with the Addition of Avastin. [S. l.], p. 1–8, 2007.

EWERTZ, Marianne; QVORTRUP, Camilla; ECKHOFF, Lise. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in patients treated with taxanes and platinum derivatives. **Acta oncologica** (Stockholm, Sweden), [S. l.], v. 54, n. 5, p. 587–591, 2015. DOI: 10.3109/0284186X.2014.995775. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25751757/>.

FEATHER, Claire E.; LEES, Justin G.; MAKKER, Preet G. S.; GOLDSTEIN, David; KWOK, John B.; MOALEM-TAYLOR, Gila; POLLY, Patsie. Oxaliplatin induces muscle loss and muscle-specific molecular changes in Mice. **Muscle & Nerve**, [S. l.], v. 57, n. 4, p. 650–658, 2018. DOI: 10.1002/MUS.25966. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mus.25966>.

FERDOUSI, Maryam et al. Corneal Confocal Microscopy Detects Small Fibre Neuropathy in Patients with Upper Gastrointestinal Cancer and Nerve Regeneration in Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 10, 2015. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0139394. Disponível em: <http://pmc/articles/PMC4592260/>.

FOLTINOVÁ, V.; ŠVIHÁLKOVÁ ŠINDLEROVÁ, L.; HORVÁTH, V.; SOVA, P.; HOFMANOVÁ, J.; JANISCH, R.; KOZUBÍK, A. Mechanisms of effects of platinum (II) and (IV) complexes. Comparison of cisplatin and oxaliplatin with satraplatin and LA-12, new PT(IV)-based drugs. A minireview. **Scripta Medica Facultatis Medicae Universitatis Brunensis Masarykianae**, [S. l.], v. 81, n. 2, p. 105–116, 2008.

FU, Deqiang; WU, Jichun; LAI, Jinzhi; LIU, Ying; ZHOU, Linlin; CHEN, Ling; ZHANG, Qiuyu. T cell recruitment triggered by optimal dose platinum compounds contributes to the therapeutic efficacy of sequential PD-1 blockade in a mouse model of colon cancer. **American Journal of Cancer Research**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 473, 2020. Disponível em:

/pmc/articles/PMC7061747/.

GALER, Bradley S.; JENSEN, Mark P. Development and preliminary validation of a pain measure specific to neuropathic pain: the Neuropathic Pain Scale. *Neurology*, [S. l.], v. 48, n. 2, p. 332–338, 1997. DOI: 10.1212/WNL.48.2.332. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9040716/>. Acesso em: 6 nov. 2022.

GAUCHAN, Punam; ANDOH, Tsugunobu; KATO, Atsushi; KURAISHI, Yasushi. Involvement of increased expression of transient receptor potential melastatin 8 in oxaliplatin-induced cold allodynia in mice. *Neuroscience Letters*, [S. l.], v. 458, n. 2, p. 93–95, 2009. DOI: 10.1016/J.NEULET.2009.04.029.

GOLDBERG, Richard M.; SARGENT, Daniel J.; MORTON, Roscoe F.; FUCHS, Charles S.; RAMANATHAN, Ramesh K.; WILLIAMSON, Stephen K.; FINDLAY, Brian P.; PITOT, Henry C.; ALBERTS, Steven R. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 23–30, 2004. DOI: 10.1200/JCO.2004.09.046.

GOOCH, Clifton L.; HARATI, Yadollah. Motor unit number estimation, ALS and clinical trials. <http://dx.doi.org/10.1080/14660820050515368>, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 71–82, 2009. DOI: 10.1080/14660820050515368. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14660820050515368>.

GRIFFITH, Kathleen A. et al. Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy and Identification of Unique Severity Groups in Colorectal Cancer. *Journal of pain and symptom management*, [S. l.], v. 54, n. 5, p. 701, 2017. DOI: 10.1016/J.JPAINSYMMAN.2017.07.033. Disponível em: /pmc/articles/PMC5659746/.

GROLLEAU, Françoise; GAMELIN, Laurence; BOISDRON-CELLE, Michèle; LAPIED, Bruno; PELHATE, Marcel; GAMELIN, Erick. A possible explanation for a neurotoxic effect of the anticancer agent oxaliplatin on neuronal voltage-gated sodium channels. *Journal of Neurophysiology*, [S. l.], v. 85, n. 5, p. 2293–2297, 2001. DOI: 10.1152/JN.2001.85.5.2293/ASSET/IMAGES/LARGE/9K0511660003.JPEG. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/jn.2001.85.5.2293>.

HEUVEL, Sandra A. S. va. Den; DOORDUIN, Jonne; STEEGERS, Monique A. H.; BRONKHORST, Ewald M.; RADEMA, Sandra A.; VISSERS, Kris C. P.; WAL, Selina E. I. va. Der; ALFEN, Nens Van. Simple surface EMG recording as a noninvasive screening method for the detection of acute oxaliplatin-induced neurotoxicity: a feasibility pilot study. *Neuroscience Letters*, [S. l.], v. 699, p. 184–188, 2019. DOI: 10.1016/J.NEULET.2019.02.014.

HILL, Andrew; BERGIN, Peter; HANNING, Fritha; THOMPSON, Paul; FINDLAY, Michael; DAMIANOVICH, Dragan; MCKEAGE, Mark J. Detecting acute neurotoxicity during platinum chemotherapy by neurophysiological assessment of motor nerve hyperexcitability. *BMC Cancer*, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1–8, 2010. DOI: 10.1186/1471-2407-10-451/FIGURES/2. Disponível em: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-10-451>.

HINMAN, Andrew; CHUANG, Huai Hu; BAUTISTA, Diana M.; JULIUS, David. TRP channel activation by reversible covalent modification. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 103, n. 51, p. 19564, 2006. DOI: 10.1073/PNAS.0609598103. Disponível em: [/pmc/articles/PMC1748265/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1748265/).  
<https://www.embase.com/records?subaction=viewrecord&id=L2010968930>

JOSEPH, Elizabeth K.; LEVINE, Jon D. Caspase signalling in neuropathic and inflammatory pain in the rat. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 20, n. 11, p. 2896–2902, 2004. DOI: 10.1111/J.1460-9568.2004.03750.X. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1460-9568.2004.03750.x>.

KAWASHIRI, Takehiro; EGASHIRA, Nobuaki; KUROBE, Kentaro; TSUTSUMI, Kuniaki; YAMASHITA, Yuji; USHIO, Soichiro; YANO, Takahisa; OISHI, Ryozo. L type Ca<sup>2+</sup> channel blockers prevent oxaliplatin-induced cold hyperalgesia and TRPM8 overexpression in rats. **Molecular pain**, [S. l.], v. 8, 2012. DOI: 10.1186/1744-8069-8-7. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22292988/>.

KERCKHOVE, Nicolas et al. Effectiveness assessment of riluzole in the prevention of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: RILUZOX-01: protocol of a randomised, parallel, controlled, double-blind and multicentre study by the UNICANCER-AFSOS Supportive Care intergroup. **BMJ Open**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. e027770, 2019. DOI: 10.1136/BMJOPEN-2018-027770. Disponível em: <https://bmjopen.bmj.com/content/9/6/e027770>.

KIM, D. Y.; KIM, J. H.; LEE, S. H.; KIM, T. Y.; HEO, D. S.; BANG, Y. J.; KIM, N. K. Phase II study of oxaliplatin, 5-fluorouracil and leucovorin in previously platinum-treated patients with advanced gastric cancer. **Annals of Oncology**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 383–387, 2003. DOI: 10.1093/annonc/mdg106. Disponível em:  
<http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753419478356/fulltext>.

KRIŽ, Jasna; ZHU, Qinzang; JULIEN, Jean Pierre; PADJEN, Ante L. Electrophysiological properties of axons in mice lacking neurofilament subunit genes: disparity between conduction velocity and axon diameter in absence of NF-H. **Brain Research**, [S. l.], v. 885, n. 1, p. 32–44, 2000. DOI: 10.1016/S0006-8993(00)02899-7.

LAINEZ, Sergio; TSANTOULAS, Christoforos; BIEL, Martin; MCNAUGHTON, Peter A. HCN3 ion channels: roles in sensory neuronal excitability and pain. **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 597, n. 17, p. 4661–4675, 2019. DOI: 10.1113/JP278211. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/JP278211>.

LEES, Justin G. et al. Effect of exercise on neuromuscular toxicity in oxaliplatin-treated mice. **Muscle & Nerve**, [S. l.], v. 64, n. 2, p. 225–234, 2021. DOI: 10.1002/MUS.27329. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mus.27329>.

LEHKY, T. J.; LEONARD, G. D.; WILSON, R. H.; GREM, J. L.; FLOETER, M. K. Oxaliplatin-induced neurotoxicity: Acute hyperexcitability and chronic neuropathy. **Muscle & Nerve**, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 387–392, 2004. DOI: 10.1002/MUS.10559. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mus.10559>.

LEONARD, Gregory D.; WAGNER, Michael R.; QUINN, Mary G.; GREM, Jean L. Severe disabling sensory-motor polyneuropathy during oxaliplatin-based chemotherapy. **Anti-**

**Cancer Drugs**, [S. l.], v. 15, n. 7, p. 733–735, 2004. DOI: 10.1097/01.CAD.0000136883.27176.88. Disponível em: [https://journals.lww.com/anti-cancerdrugs/Fulltext/2004/08000/Severe\\_disabling\\_sensory\\_motor\\_polyneuropathy.12.aspx](https://journals.lww.com/anti-cancerdrugs/Fulltext/2004/08000/Severe_disabling_sensory_motor_polyneuropathy.12.aspx).

LI, Leipeng; LIU, Ruisi; XU, Fengjie; ZU, Yuangang; LIU, Zhiguo. Study on the interactions between anti-cancer drug oxaliplatin and DNA by atomic force microscopy. **Micron**, [S. l.], v. 76, p. 46–51, 2015. DOI: 10.1016/J.MICRON.2015.05.002.

MACPHERSON, Lindsey J.; DUBIN, Adrienne E.; EVANS, Michael J.; MARR, Felix; SCHULTZ, Peter G.; CRAVATT, Benjamin F.; PATAPOUTIAN, Ardem. Noxious compounds activate TRPA1 ion channels through covalent modification of cysteines. **Nature** 2006 445:7127, [S. l.], v. 445, n. 7127, p. 541–545, 2007. DOI: 10.1038/nature05544. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature05544>.

MAKKER, Preet G. S.; WHITE, Daniel; LEES, Justin G.; PARMAR, Jasneet; GOLDSTEIN, David; PARK, Susanna B.; HOWELLS, James; MOALEM-TAYLOR, Gila. Acute changes in nerve excitability following oxaliplatin treatment in mice. **Journal of Neurophysiology**, [S. l.], v. 124, n. 1, p. 232–244, 2020. DOI: 10.1152/JN.00260.2020/ASSET/IMAGES/LARGE/Z9K0072055190007.JPEG. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/jn.00260.2020>.

MELZACK, Ronald. The McGill Pain Questionnaire: Major properties and scoring methods. **Pain**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 277–299, 1975. DOI: 10.1016/0304-3959(75)90044-5. Disponível em: [https://journals.lww.com/pain/Fulltext/1975/09000/The\\_McGill\\_Pain\\_Questionnaire\\_\\_Major\\_properties.6.aspx](https://journals.lww.com/pain/Fulltext/1975/09000/The_McGill_Pain_Questionnaire__Major_properties.6.aspx).

MERKIES, Ingemar S. J.; SCHMITZ, Paul I. M.; VAN DER MECHÉ, Frans G. A.; VAN DOORN, Pieter A. Psychometric evaluation of a new sensory scale in immune-mediated polyneuropathies. **Neurology**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 943–949, 2000. DOI: 10.1212/WNL.54.4.943. Disponível em: <https://n.neurology.org/content/54/4/943>.

MEYER, Laurence; PATTE-MENSAH, Christine; TALEB, Omar; MENSAH-NYAGAN, Ayikoe Guy. Allopregnanolone prevents and suppresses oxaliplatin-evoked painful neuropathy: Multi-parametric assessment and direct evidence. **Pain**, [S. l.], v. 152, n. 1, p. 170–181, 2011. DOI: 10.1016/J.PAIN.2010.10.015. Disponível em: </es/documents/11c6ecababf1472864e8142c7689609dd6794b5d>.

NAKATA, T.; MATSUI, T.; KOBAYASHI, K.; KOBAYASHI, Y.; ANZAI, N. Organic cation transporter 2 (SLC22A2), a low-affinity and high-capacity choline transporter, is preferentially enriched on synaptic vesicles in cholinergic neurons. **Neuroscience**, [S. l.], v. 252, p. 212–221, 2013. DOI: 10.1016/J.NEUROSCIENCE.2013.08.011.

NASSINI, Romina et al. Oxaliplatin elicits mechanical and cold allodynia in rodents via TRPA1 receptor stimulation. **Pain**, [S. l.], v. 152, n. 7, p. 1621–1631, 2011. DOI: 10.1016/J.PAIN.2011.02.051. Disponível em: [https://journals.lww.com/pain/Fulltext/2011/07000/Oxaliplatin\\_elicits\\_mechanical\\_and\\_cold\\_allodynia.27.aspx](https://journals.lww.com/pain/Fulltext/2011/07000/Oxaliplatin_elicits_mechanical_and_cold_allodynia.27.aspx).

OLDENBURG, Jan; FOSSÅ, Sophie D.; DAHL, Alv A. Scale for Chemotherapy-induced

Long-term Neurotoxicity (SCIN): Psychometrics, Validation, and Findings in a Large Sample of Testicular Cancer Survivors. *Quality of Life Research* 2006 15:5, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 791–800, 2013. DOI: 10.1007/S11136-005-5370-6. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11136-005-5370-6>.

OUN, Rabbab; MOUSSA, Yvonne E.; WHEATE, Nial J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Transactions*, [S. l.], v. 47, n. 19, p. 6645–6653, 2018. DOI: 10.1039/C8DT00838H. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/dt/c8dt00838h>.

PACHMAN, Deirdre R. et al. Clinical Course of Oxaliplatin-Induced Neuropathy: Results From the Randomized Phase III Trial N08CB (Alliance). *Journal of Clinical Oncology*, [S. l.], v. 33, n. 30, p. 3416, 2015. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.8533. Disponível em: </pmc/articles/PMC4606060/>.

PATEL, Monica A.; MCDEVITT, Rachel L.; SASSACK, Will; ZALUPSKI, Mark M. Motor “freezing” with oxaliplatin. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, [S. l.], v. 27, n. 8, p. 2014–2017, 2021. DOI: 10.1177/10781552211004985.

PEREIRA, Anamaria Falcão; DE OLIVEIRA, Francisco Fábio Bezerra; DE FREITAS ALVES, Bruno Wesley; DE MENEZES, Karoline Luanne Santos; DE MESQUITA, Aline Kelly Viana; LISBOA, Mario Roberto Pontes; DE SOUSA, Kalina Kelma Oliveira; VALE, Mariana Lima. Neurotoxic effect of oxaliplatin: Comparison with its oxalate-free analogue cis-[PtII(1R,2R-DACH)(3-acetoxy-1,1-cyclobutanedicarboxylato)] (LLC-1402) in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, [S. l.], v. 340, p. 77–84, 2018. DOI: 10.1016/J.TAAP.2018.01.001.

PEREIRA, A. F.; LINO, J. A.; ALVES, B. W. F.; LISBOA, M. R. P.; PONTES, R. B.; LEITE, C. A. V. G.; NOGUEIRA, R. B.; LIMA-JÚNIOR, R. C. P.; VALE, M. L. Amifostine protects from the peripheral sensory neuropathy induced by oxaliplatin in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [S. l.], v. 53, n. 11, p. 1–8, 2020. DOI: 10.1590/1414-431X202010263. Disponível em: </pmc/articles/PMC7510240/>.

POUPON, Laura et al. Targeting the TREK-1 potassium channel via riluzole to eliminate the neuropathic and depressive-like effects of oxaliplatin. *Neuropharmacology*, [S. l.], v. 140, p. 43–61, 2018. DOI: 10.1016/J.NEUROPHARM.2018.07.026.

POUPON, Laura; KERCKHOVE, Nicolas; VEIN, Julie; LAMOINE, Sylvain; AUTHIER, Nicolas; BUSSEROLLES, Jérôme; BALAYSSAC, David. Minimizing chemotherapy-induced peripheral neuropathy: preclinical and clinical development of new perspectives. *Neuropharmacology*, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 1269–1282, 2015. DOI: 10.1517/14740338.2015.1056777. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14740338.2015.1056777>.

SANOFI-AVENTIS. A Randomized, Prospective Study Comparing Three Regimens of Eloxatin TM Plus Fluoropyrimidine (Tree1 Study) with the Addition of Avastin TM (Tree2 Study) for Evaluation of Safety and Tolerability in First Line Treatment of Patients with Advanced. [S. l.], 2007.

SCAGLIOTTI, Giorgio Vittorio et al. Pemetrexed Combined with Oxaliplatin or Carboplatin

as First-Line Treatment in Advanced Non–Small Cell Lung Cancer: A Multicenter, Randomized, Phase II Trial. **Clinical Cancer Research**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 690–696, 2005. DOI: 10.1158/1078-0432.690.11.2. Disponível em: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/11/2/690/186835/Pemetrexed-Combined-with-Oxaliplatin-or>.

SCHMITT, Linda Isabell; LEO, Markus; KLEINSCHNITZ, Christoph; HAGENACKER, Tim. Oxaliplatin Modulates the Characteristics of Voltage-Gated Calcium Channels and Action Potentials in Small Dorsal Root Ganglion Neurons of Rats. **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 55, n. 12, p. 8842–8855, 2018. DOI: 10.1007/S12035-018-1029-5/FIGURES/8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-018-1029-5>.

SCHRADER, Michael; FAHIMI, H. Dariush. Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, [S. l.], v. 1763, n. 12, p. 1755–1766, 2006. DOI: 10.1016/J.BBAMCR.2006.09.006.

SHEFNER, Jeremy M.; GOOCH, Clifton L. Motor unit number estimation. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 243–260, 2003. DOI: 10.1016/S1047-9651(02)00130-4. IMAI, Satoshi et al. Taxanes and platinum derivatives impair Schwann cells via distinct mechanisms. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, 2017. DOI: 10.1038/S41598-017-05784-1. Disponível em: /pmc/articles/PMC5519765/.

SITTL, Ruth; LAMPERT, Angelika; HUTH, Tobias; SCHUY, E. Theresa; LINK, Andrea S.; FLECKENSTEIN, Johannes; ALZHEIMER, Christian; GRAFE, Peter; CARR, Richard W. Anticancer drug oxaliplatin induces acute cooling-aggravated neuropathy via sodium channel subtype Na V1.6-resurgent and persistent current. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 109, n. 17, p. 6704–6709, 2012. DOI: 10.1073/PNAS.1118058109/-/DCSUPPLEMENTAL. Disponível em: /pmc/articles/PMC3340057/.

SOULIÉ, Patrick; RAYMOND, Eric; BRIENZA, Silvano; CVITKOVIC, Esteban. Oxaliplatine : le premier DACH platine en clinique. **Bulletin du Cancer**, [S. l.], v. 84, n. 6, p. 665–73, 1997. Disponível em: [https://www.jle.com/fr/revues/bdc/e-docs/oxaliplatine\\_le\\_premier\\_dach\\_platine\\_en\\_clinique\\_70610/article.phtml?tab=texte](https://www.jle.com/fr/revues/bdc/e-docs/oxaliplatine_le_premier_dach_platine_en_clinique_70610/article.phtml?tab=texte).

SPROWL, Jason A.; CIARIMBOLI, Giuliano; LANCASTER, Cynthia S.; GIOVINAZZO, Hugh; GIBSON, Alice A.; DU, Guoqing; JANKE, Laura J.; CAVALETTI, Guido; SHIELDS, Anthony F.; SPARREBOOM, Alex. Oxaliplatin-induced neurotoxicity is dependent on the organic cation transporter OCT2. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 110, no. 27, p. 11199–11204, 2013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305321110>.

STAROBOVA, Hana; VETTER, Irina. Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, [S. l.], v. 10, p. 174, 2017. DOI: 10.3389/FNMOL.2017.00174. Disponível em: /pmc/articles/PMC5450696/. STEIN, Alexander; ARNOLD, Dirk. Oxaliplatin: a review of approved uses. <http://dx.doi.org/10.1517/14656566.2012.643870>, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 125–137, 2011. DOI: 10.1517/14656566.2012.643870. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14656566.2012.643870>.

STOJANOVSKA, Vanesa et al. Oxaliplatin-induced changes in microbiota, TLR4+ cells and enhanced HMGB1 expression in the murine colon. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 13, n. 6, 2018. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0198359. Disponível em: [/pmc/articles/PMC5997344/](#).

PEREIRA, A. F.; LINO, J. A.; ALVES, B. W. F.; LISBOA, M. R. P.; PONTES, R. B.; LEITE, C. A. V. G.; NOGUEIRA, R. B.; LIMA-JÚNIOR, R. C. P.; VALE, M. L. Amifostine protects from the peripheral sensory neuropathy induced by oxaliplatin in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [S. l.], v. 53, n. 11, p. 1–8, 2020. DOI: 10.1590/1414-431X202010263. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7510240/](#). Acesso em: 6 nov. 2022.

TA, Lauren E.; ESPESET, Laura; PODRATZ, Jewel; WINDEBANK, Anthony J. Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum–DNA binding. **NeuroToxicology**, [S. l.], v. 27, n. 6, p. 992–1002, 2006. DOI: 10.1016/J.NEURO.2006.04.010.

TALEB, O.; BOUZOBRA, F.; TEKIN-PALA, H.; MEYER, L.; MENSAH-NYAGAN, A. G.; PATTE-MENSAH, C. Behavioral and electromyographic assessment of oxaliplatin-induced motor dysfunctions: Evidence for a therapeutic effect of allopregnanolone. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 320, p. 440–449, 2017. DOI: 10.1016/J.BBR.2016.10.040.

TESNIERE, A. et al. Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. **Oncogene** 2010 29:4, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 482–491, 2009. DOI: 10.1038/onc.2009.356. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/onc2009356>.

TOFTHAGEN, Cindy; DENISE MCALLISTER, R.; MCMILLAN, Susan C. Peripheral neuropathy in patients with colorectal cancer receiving oxaliplatin. **Clinical Journal of Oncology Nursing**, 2011.

TRECARICHI, Annalisa; FLATTERS, Sarah J. L. Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **International Review of Neurobiology**, [S. l.], v. 145, p. 83–126, 2019. DOI: 10.1016/BS.IRN.2019.05.001.

TSUTSUMI, Kuniaki; YAMASHITA, Yuji; USHIO, Soichiro; KAWASHIRI, Takehiro; KANAME, Takanori; FUJITA, Shunsuke; OISHI, Ryozi; EGASHIRA, Nobuaki. Oxaliplatin induces hypomyelination and reduced neuregulin 1 expression in the rat sciatic nerve. **Neuroscience Research**, vol. 80, no. 1, p. 86–90, 2014. DOI 10.1016/j.neures.2014.02.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2014.02.004>.

VALERIO, M. R. et al. A phase II study of pegylated liposomal doxorubicin oxaliplatin and cyclophosphamide as second-line treatment in relapsed ovarian carcinoma. **International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society**, [S. l.], v. 16 Suppl 1, n. SUPPL. 1, p. 79–85, 2006. DOI: 10.1111/J.1525-1438.2006.00324.X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16515572/>.

WANG, Allison B.; HOUSLEY, Stephen N.; FLORES, Ann Marie; COPE, Timothy C.; PERREAULT, Eric J. Cancer survivors post-chemotherapy exhibit unique proprioceptive deficits in proximal limbs. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 32, 2022. DOI: 10.1186/S12984-022-01010-W. Disponível em: [/pmc/articles/PMC8944065/](#). Acesso em: 6 nov. 2022.

WASEEM, Mohammad; PARVEZ, Suhel. Neuroprotective activities of curcumin and quercetin with potential relevance to mitochondrial dysfunction induced by oxaliplatin. **Protoplasma**, [S. l.], v. 253, n. 2, p. 417–430, 2016. DOI: 10.1007/S00709-015-0821-6/FIGURES/6. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-015-0821-6>.

WOLF, Sherry L. et al. The relationship between numbness, tingling, and shooting/burning pain in patients with chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) as measured by the EORTC QLQ-CIPN20 instrument, N06CA. **Supportive Care in Cancer**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 625, 2012. DOI: 10.1007/S00520-011-1141-9. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3329939/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22811411/).

WOYNAROWSKI, Jan M. et al. Oxaliplatin-Induced Damage of Cellular DNA. **Molecular Pharmacology**, [S. l.], v. 58, n. 5, p. 920–927, 2000. DOI: 10.1124/MOL.58.5.920. Disponível em: <https://molpharm.aspetjournals.org/content/58/5/920>.

WU, Long Jun; SWEET, Tara Beth; CLAPHAM, David E. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXVI. Current Progress in the Mammalian TRP Ion Channel Family. **Pharmacological Reviews**, [S. l.], v. 62, n. 3, p. 381, 2010. DOI: 10.1124/PR.110.002725. Disponível em: [/pmc/articles/PMC2964900/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20914900/).

YANG, Yang; HU, Liang; WANG, Chaoyu; YANG, Xing; SONG, Ling; JIANG, Chunyi; LI, Yan; LI, Tianxi; LIU, Wen Tao; FENG, Jifeng. P38/TF/HIF-  $\alpha$  Signaling Pathway Participates in the Progression of CIPN in Mice. **BioMed Research International**, vol. 2019, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5347804>.

YANG, Yang; ZHAO, Bing; GAO, Xuejiao; SUN, Jinbing; YE, Juan; LI, Jun; CAO, Peng. Targeting strategies for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: clinical syndrome, molecular basis, and drug development. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research** 2021 40:1, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 1–25, 2021. DOI: 10.1186/S13046-021-02141-Z. Disponível em: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-021-02141-z>.

ZAREI, B.; MOEINI NODEH, M.; ARASTEH, O. Severe Generalized Weakness, Paraplegia following administration of Oxaliplatin in a patient with refractory T-cell non-Hodgkin lymphoma: A case report. **Journal of Oncology Pharmacy Practice**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 1009–1013, 2022. DOI: 10.1177/10781552211073531.

ZHENG, Huaien; XIAO, Wen Hua; BENNETT, Gary J. Functional deficits in peripheral nerve mitochondria in rats with paclitaxel- and oxaliplatin-evoked painful peripheral neuropathy. **Experimental neurology**, [S. l.], v. 232, n. 2, p. 154, 2011. DOI: 10.1016/J.EXPNEUROL.2011.08.016. Disponível em: [/pmc/articles/PMC320204](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21812004/)